

University of Groningen

Over de tuberkelbacterien in gereseceerde longdelen

Mulder-de Jong, Martje Tetje

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Final author's version (accepted by publisher, after peer review)

Publication date:

1960

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Mulder-de Jong, M. T. (1960). *Over de tuberkelbacterien in gereseceerde longdelen*. [, Rijksuniversiteit Groningen]. [S.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

OVER DE TUBERKELBACTERIËN
IN GERESECEERDE LONGDELEN

M. T. MULDER-DE JONG

OVER DE TUBERKELBACTERIËN
IN GERESECEERDE LONGDELEN

STELLINGEN

1

Wanneer bij een patiënt met longtuberculose onder chemotherapeutische behandeling het sputum spoedig negatief is geworden, bestaat toch de mogelijkheid, dat zich in de longlaesies bacteriën bevinden, die resistent zijn tegen de gebruikte middelen.

2

De virulentie van tegen isonicotinezuurhydrazide sterk resistente tuberkelbacteriën is meestal aanzienlijk groter dan van B.C.G.

3

Bij patiënten, die met isonicotinezuurhydrazide behandeld worden, heeft de toediening van pyridoxine geen invloed op de bloedspiegel van de biologisch actieve fractie van het tuberculostaticum.

4

Bij de behandeling van tuberculose is het gebruik van calcium-benzoyl-para-amino-salicylaat en chemische verbindingen van para-amino-salicylzuur met isonicotinezuurhydrazide af te raden.

5

Een abnormaal verloop van de aorta en zijn eerste vertakkingen kan ernstige klinische verschijnselen veroorzaken.

6

In ieder stadium van het ziektebeloop van gegeneraliseerde sclerodermie kan een acute nierinsufficiëntie optreden.

7

Het voorkomen van langs natuurlijke weg verworven antistoffen tegen poliomyelitis bij Nederlandse kinderen wordt mede bepaald door de welstand van het milieu waarin ze opgroeien.

(N. T. V. G. 1959, 103, 2150)

8

Bij patiënten, aan wie corticosteroiden worden gegeven, dienen zowel oude, inactief lijkende, als dubieus actieve tuberculeuze afwijkingen met tuberculostatische middelen te worden behandeld.

9

Het is waarschijnlijk, dat het bevruchte ei in de tuba te gronde kan gaan, wanneer het onvoldoende gevoed wordt door het secreet van de tuba-wand.

(Z. GEBURTSH. GYNÄK. 1959, 154, 1)

10

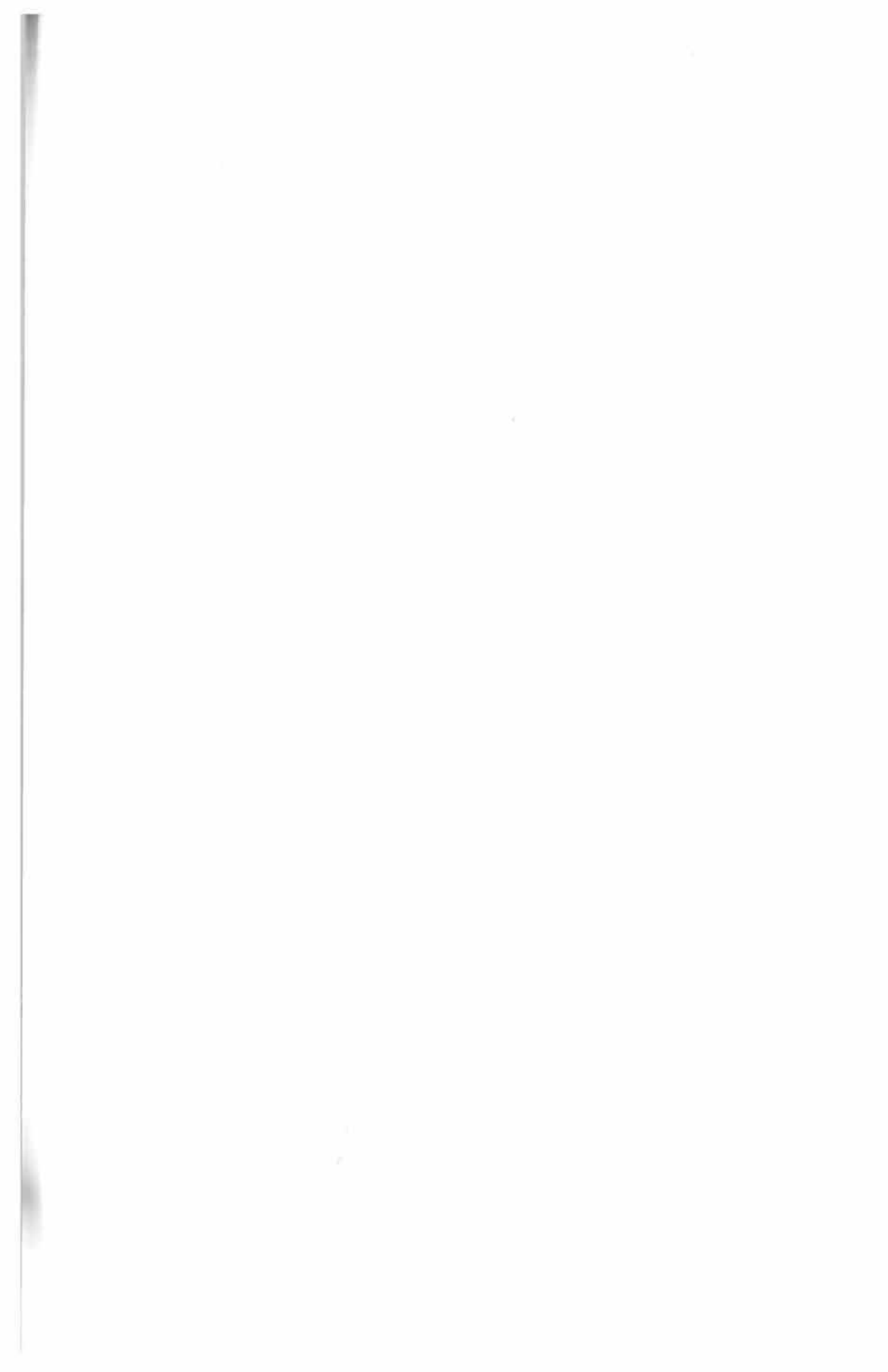
Waarnemingen, gedaan in het dierexperiment, maken het waarschijnlijk, dat atrofie van de peribronchiale zenuwganglia bijdraagt tot het ontstaan van bronchiectasieën.

(DIS. CHEST 1959, 35, 394)

11

Bij een in te stellen opleiding tot ziekenverzorgster is het nodig de leerstof op het gebied van de anatomie, physiologie en ziekteleer zeer eenvoudig te houden.

STELLINGEN BEHORENDE BIJ
M. T. MULDER-DE JONG
OVER DE TUBERKELBACTERIËN IN
GERESECEERDE LONGDELEN
GRONINGEN 1960



RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN

OVER DE TUBERKELBACTERIËN IN GERESECEERDE LONGDELEN

TUBERCLE BACILLI IN RESECTED PULMONARY TISSUE
(WITH A SUMMARY IN ENGLISH)

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE

AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS DR P. J. BOUMAN,
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTSGELEERDHEID,
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 15 JUNI 1960
DES NAMIDDAGS TE 3 UUR PRECIES

DOOR

MARTJE TETJE MULDER-DE JONG

GEBOREN TE GRONINGEN

1960

DRUKKERIJ TORENLAAN

ASSEN

Met erkentelijkheid wordt hier melding gemaakt van de financiële steun, die voor de bewerking van dit proefschrift werd ontvangen van de Stichting „De Drie Lichten”, de Koninklijke Nederlandse Centrale Vereniging tot bestrijding der Tuberculose en het bestuur van het Sanatorium „Beatrixoord”.

PROMOTOR: PROF. DR. J. K. KRAAN

Aan mijn ouders

Aan mijn man

Aan Nieske, Titi en Bernarda



Bij het voltooien van dit proefschrift voel ik mij dankbaar gestemd jegens velen, die hebben bijgedragen aan mijn vorming tot arts. In de eerste plaats, Vader en Moeder, gaat deze dank uit naar U beiden, die mij mijn studie hebt willen mogelijk maken. Het verheugt me zeer, dat U deze dag mee kunt beleven.

Aan de Hoogleraren, Oud-Hoogleraren, Lectoren en Docenten van de Universiteit te Groningen betuig ik mijn dank voor de opleiding, die ik van hen mocht ontvangen.

Hooggeleerde MULDER en Zeergeleerde GOSLINGS, de tijd, gedurende welke ik onder Uw leiding in de Interne Kliniek te Leiden heb gewerkt, is voor mijn vorming tot longarts zeer vruchtbaar geweest. Aan het bestuur van het sanatorium „Beatrixoord” wil ik hier gaarne dank zeggen voor de mogelijkheid tot praktisch werk en tot onderzoek, die het mij heeft willen bieden.

Hooggeleerde KRAAN, Hooggeachte Promotor, het heeft me niet berouwd, dat ik er destijds toe besloten ben, om in „Beatrixoord” te komen werken en dat mijn opleiding tot longarts onder Uw leiding heeft bestaan. Het is voor mij van veel betekenis geweest, dat U mij ook in de laatste jaren de gelegenheid hebt willen blijven geven tot het vervullen van een taak in het sanatorium, passende bij mijn omstandigheden. Alle collegae, met wie ik in de loop der jaren in „Beatrixoord” heb samengewerkt, wil ik hier gaarne danken voor de prettige sfeer, waarin dit geschiedde.

Het onderzoek, in dit proefschrift beschreven, had niet verricht kunnen worden zonder de geduldige en toegewijde medewerking van vele leden van het laboratoriumpersoneel, waarvan ik hier met name wil noemen de dames DALLMEYER-VAN DIJK, VAN DER MEULEN, VELTMAN, SEKEMA, HOEKSTRA-VAN DER SCHOOT en FASE en de heren TAP, DE JONG, HOFSTRA en VEGT. Hun allen betuig ik mijn erkentelijkheid. Daarnaast betreft mijn dank zr. WEIDIJK voor haar hulp vanuit de operatiekamer, de heer JANSSEN voor zijn assistentie bij de fotografie en mejuffrouw DE JONG voor het typen van het manuscript.

Tenslotte, RENKE, jij weet, hoezeer ik je dankbaar ben voor je aanmoediging en je steun en voor je begrip voor de omstandigheden, waaronder deze studie werd verricht. Daarzonder immers had dit proefschrift niet geschreven kunnen worden.

Inhoudsopgave

INLEIDING	XI
HOOFDSTUK I. ENKELE GEGEVENS OVER HET ONDERZOCHE MATERIAAL	1
HOOFDSTUK II. DE WERKWIJZE	4
HOOFDSTUK III. DE BEOORDELING VAN HET RÖNTGENBEELD EN VAN DE AFWIJKINGEN IN DE RESECTIEPREPARATEN.	18
HOOFDSTUK IV. RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK	25
§ 1. Het klinisch verloop en de behandelingsduur van het longproces in relatie tot de bacteriën in de resectiepreparaten.	25
§ 2. De kaashaarden.	51
§ 3. De gemengde haarden	55
§ 4. De cavernes	64
§ 5. De gevallen waarbij het sputum in de preoperatieve periode resistente bacteriën bevatte.	76
HOOFDSTUK V. DE GEKWEekte BACTERIEPOPULATIES	81
§ 1. Populaties met gevoelige bacteriën.	84
§ 2. Populaties met resistente bacteriën.	87
HOOFDSTUK VI. SLOTBESCHOUWING	114
SAMENVATTING	122
SUMMARY	131
LIJST VAN AANGEHAALDE LITTERATUUR	141

Inleiding

Tot aan de tijd, waarin de resectie van longdelen in zwang kwam als behandelingsmethode voor longtuberculose, konden bij de patiënt de tuberkelbacteriën, behalve in het sputum en in enkele gevallen uit gedraineerde cavernes en empyemen, slechts worden bestudeerd in door autopsie verkregen longen. Voor zover de patiënten aan hun tuberculose gestorven waren, bevonden ze zich dan meestal in ver voortgeschreden afwijkingen; wanneer een andere oorzaak tot de dood had geleid, waren de tuberculeuze longafwijkingen vaak een toevallige bevinding, waarover anamnesticch weinig gegevens bestonden.

De plaats, die de resectie van de longdelen met de voornaamste tuberculeuze afwijkingen in het geheel van de behandelingswijzen van de patiënt inneemt, heeft in de loop van de tijd, waarin deze wordt toegepast, veranderingen ondergaan; tevens bestaan in diverse landen en centra verschillende opvattingen over de indicaties voor de ingreep en over het tijdstip waarop deze het beste kan plaats vinden. In de eerste jaren behielden verschillende collapsmethoden een belangrijk indicatiegebied en werd vóór een resectie de toediening van streptomycine — toen het enige goed werkzame antibioticum dat beschikbaar was — zoveel mogelijk beperkt uit vrees voor het optreden van doofheid en voor het ontstaan van resistentie, waardoor het niet meer als bescherming bij de operatie zou kunnen dienen. In de laatste jaren worden gedurende vele maanden combinaties van isonicotinezuurhydrazide, para-amino-salicylzuur en streptomycine, — verder aangegeven als INH, PAS en Sm — en eventueel van andere medicamenten, zoals pyrazinamide en viomycine, toegediend en worden resecties vooral uitgevoerd in die gevallen, waar met een behandeling met deze chemotherapeutica en met bedrust geen genezing bereikt wordt of de kans op een recidief aanzienlijk wordt geacht. Er is in verschillende landen een vrij grote variatie in de ernst van de gevallen, die ter behandeling komen en in de mogelijkheid tot een intensieve, consequent doorgevoerde, met bedrust gepaard gaande medicamenteuze behandeling, zowel tengevolge van economische en sociale omstandigheden, als van de houding van de

patiënten ten opzichte van een dergelijke behandeling. Hierdoor is er ook een grote verscheidenheid in de longafwijkingen, die in de resectiepreparaten ter beschikking komen en in de uitkomsten van verschillende bacteriologische onderzoeken die elders zijn verricht. Zowel uit de literatuur als uit eigen onderzoek blijkt, dat vele tuberculeuze afwijkingen bacteriën bevatten, die zich normaal laten kleuren, maar die niet gekweekt kunnen worden. Dit geldt, wanneer deze kweekpogingen gedaan worden met routinemethoden, die voor het kweken van tuberkelbacteriën in gebruik zijn. Dit geldt ook, wanneer bijzondere werkwijzen gevolgd worden, die tot doel hebben de bacteriën zo weinig mogelijk te beschadigen of hen zoveel mogelijk te ontdoen van schadelijke stoffen, die hen in de tuberculeuze laesie omringen, of wanneer getracht wordt door toevoegingen of veranderingen aan voedingsbodems in mogelijk gewijzigde behoeften van de bacteriën te voorzien. Evenmin leidt het gebruik van proefdieren, zoals de cavia, tot een aan de groei komen van de bacteriën uit een aanzienlijk groter aantal longhaarden dan op voedingsbodems bereikbaar is.

Doel van het onderzoek, zoals dit door vele anderen en door ons is verricht, is, te vinden in welke laesies en bij welke preoperatieve toestand en behandelingswijze nog levende tuberkelbacteriën worden aangetroffen, omdat hieruit misschien conclusies vallen te trekken over het effect van de preoperatieve behandeling en de noodzaak van resectie in bepaalde gevallen, vooral ook met het oog op de kans dat overeenkomstige gevallen, indien niet geopereerd, zouden recidiveren. Ook hoopten wij er richtlijnen aan te ontleen voor de verdere behandeling van patiënten, bij wie slechts een deel der afwijkingen werd geresecereerd. Er bestaat echter onzekerheid over de toestand van de wel kleurbare, maar niet kweekbare bacteriën, daar het niet bekend is, of deze bacteriën dood zijn of dat ze in een soort rusttoestand verkeren, die hen verhindert zich bij overbrenging op voedingsbodems of in proefdieren te vermenigvuldigen, maar waaruit ze eventueel bij gewijzigde omstandigheden in de patiënt — althans voor een deel — weer zouden kunnen overgaan in een staat van actieve stofwisseling en vermenigvuldiging. Deze onzekerheid ontnemt aan alle uitkomsten, die worden gevonden op het punt van de frequentie van het voorko-

men van kweekbare bacteriën in bepaalde afwijkingen en bij een bepaalde behandeling, een deel van hun waarde en beperkt daardoor ook de betekenis, die men er voor de kliniek aan zou kunnen hechten. In vele resectiepreparaten bestaan oude naast jongere tuberculeuze afwijkingen, vaak verschillen de laesies in een longdeel in anatomische bouw. De toestand van de bacteriën zal, hiermee samenhangend, kunnen variëren. Ook zou van invloed kunnen zijn niet alleen de duur van een behandeling met chemotherapeutica, maar tevens het tijdstip waarop deze begon: toen de afwijkingen reeds min of meer tot rust gekomen waren, of terwijl ze juist ontstaan waren. Ook kan het optreden van bacteriële resistentie tegen de toegediende chemotherapeutica invloed op de kweekbaarheid van de bacteriën hebben gehad.

De resectiepreparaten, waarop het eigen onderzoek is verricht, zijn afkomstig van 245 patiënten, die in het sanatorium Beatrixoord behandeld en in de jaren 1955, 1956 en 1957 geopereerd werden. In die periode vond de lang voortgezette behandeling met 2 of 3 chemotherapeutica, voorafgaande aan een operatieve ingreep, ingang. Hierdoor is er onder deze gevallen nog een grotere variatie in behandelingsduur dan bij in latere jaren geopereerde patiënten, hetgeen de mogelijkheid vergrootte om na te gaan of de behandelingsduur invloed had op de kweekbaarheid van de bacteriën in de laesies. Daar de meeste gevallen tijdens vrijwel hun hele behandeling in het sanatorium waren opgenomen, stonden vele gegevens over het preoperatieve verloop van de ziekte ter beschikking, daar regelmatig röntgenologisch, inclusief planigrafisch en soms ook bronchografisch onderzoek van de longen werd verricht, het sputum regelmatig werd onderzocht en van positieve sputumkweken vóór of tijdens de kuur resistentiebepalingen werden gedaan. Ook waren over de meeste patiënten, die een recidief doormaakten, gegevens van de vroegere ziekteperiodes bekend.

Hoewel geen bijzondere kweekmethoden werden toegepast en de anatomie van de longafwijkingen slechts macroscopisch werd beoordeeld, leek het door de ruime mogelijkheid om de bevindingen bij de resectiepreparaten te toetsen aan het preoperatieve klinische ver-

loop gewettigd, dit onderzoek uit te voeren. Bovendien leek het nuttig, ondanks de talrijke buitenlandse onderzoekingen op dit gebied, een dergelijk onderzoek ook aan Nederlands materiaal te verrichten, daar de opvattingen over wat als een juist doorgevoerde kuur voor longtuberculose moet worden beschouwd sinds Bronkhorst in Nederland toch een eigen accent hebben.

Hoofdstuk I

Enkele gegevens over het onderzochte materiaal

Patiënten.

Het onderzochte materiaal bestond uit 255 resectiepreparaten, afkomstig van 245 patiënten, waarvan er 10 dubbelzijdig geopereerd werden in de periode van het onderzoek. Van enkele anderen, die ook dubbelzijdig werden geopereerd, werden slechts de bij één operatie verkregen longdelen in deze serie opgenomen.

De 255 resecties werden verricht tussen 15 november 1954 en 1 januari 1958. Door omstandigheden, die geen betrekking hadden op het onderzoek, werden in deze periode gedurende enkele maanden de bij operatie verkregen longdelen niet bacteriologisch onderzocht. Overigens werden ze alle zonder uitzondering in het onderzoek opgenomen.

Totaal	mannen	vrouwen
245	141	104

TABEL I. GESLACHT VAN DE GEOPEREERDE PATIËNTEN

Sex of the patients

Leeftijd	aantal
0 tot 10	1
10 tot 20	21
20 tot 30	85
30 tot 40	83
40 tot 50	43
50 tot 60	12
totaal	245

TABEL 2. LEEFTIJD VAN DE PATIËNTEN BIJ OPERATIE

Age of the patients at operation

In tabel 1 is het geslacht van de geopereerde patiënten gegeven, in tabel 2 hun leeftijd. De verhouding tussen het aantal geopereerde mannen en vrouwen komt overeen met die van het totale aantal

hiervan, dat in het sanatorium was opgenomen. Vergeleken met de totale sanatoriumbevolking zijn er weinig kinderen en oudere mensen geopereerd, daar de eersten door de aard van hun longafwijkingen en de laatsten door hun leeftijd en algemene toestand hier minder vaak voor in aanmerking kwamen. Van alle patiënten, die in deze periode in het sanatorium werden opgenomen, werd bij 28% resectie verricht, namelijk bij 6 % van de kinderen tot 18 jaar en bij de helft van de patiënten van 18 jaar en ouder.

Indicaties.

Het is niet gemakkelijk nauwkeurig aan te geven bij welke patiënten, die in het sanatorium behandeld werden, resectie geïndiceerd geacht werd. Dit was in een gering aantal gevallen wegens het blijven voortbestaan van cavernes of wegens het positief blijven of weer positief worden van het sputum: in 75 gevallen waren bij opname cavernes aangetoond, bij 24 van deze 75 waren ze vlak voor de resectie nog open. Het sputum was in de gehele serie in 31 gevallen in de laatste 3 maanden voor de operatie nog positief. Ook waren er in het geheel bij niet meer dan 23 patiënten resistente bacteriën tijdens de behandeling in het sputum aangetoond en hiervan was bij 14 het sputum onder voortgezette behandeling negatief geworden. Met een gemiddelde behandelingsduur in de gehele serie van 8,2 maand met combinaties van chemotherapeutica waren bij de meeste patiënten röntgenologisch exsudatieve en productief-verkazende afwijkingen, wanneer die in het begin aanwezig waren, zeer aanzienlijk verbeterd; wanneer er in het begin reeds geïndureerde en kalkhoudende haardvormige schaduwen waren, waren deze meestal grotendeels onveranderd gebleven, althans in hun röntgenologisch aspect.

Bij de meerderheid der gevallen werd tot resectie besloten, omdat er nog resten van het tuberculeuze proces na de medicamenteuze behandeling overgebleven waren, waarvan mogelijk geacht werd, dat zij in de toekomst tot recidief zouden leiden. Bij de 103 patiënten in de onderzochte serie, die wegens een recidief van ook reeds eerder behandelde tuberculose in het sanatorium werden opgenomen, werd hiertoe vaak ook bij vrij geringe restafwijkingen overgegaan. Ook vormden het beroep (onderwijzer, verpleegster), de sociale omstan-

digheden of de onrustige aard van sommige patiënten soms een reden om bij betrekkelijk geringe afwijkingen resectie te verrichten.

<i>Links :</i>			
gehele long	6		
bovenkwab	5		
onderkwab	3		
5 segmenten	1		
4 segmenten	2		
3 segmenten	17	(ap. post. segm. bovenkw. +	
		ap. segm. onderkw. 5)	
		(pars superior bovenkwab	10)
2 segmenten	63	(ap. post. segm. bovenkwab	57)
1 segment	18	(apicaal segm. onderkwab	15)
totaal	115		
<i>Rechts :</i>			
bovenkwab	16		
middenkwab	1		
boven- en middenkwab	2		
onderkwab	4		
kwab en 2 segmenten	5		
kwab en 1 segment	6		
3 segmenten	11	(ap. post. segm. bovenkw. +	
		ap. segm. onderkw. 9)	
2 segmenten	73	(ap. post. segm. bovenkwab	67)
1 segment	21	(apicaal segm. onderkwab	9)
1 wig	1		
totaal	140		

TABEL 3. OMVANG VAN DE RESECTIE
Size of the resected lungtissue

Zoals uit tabel 3 is te zien, bestonden de meeste ingrepen uit segmentresecties. Behalve de ene genoemde wigexcisie werden in andere gevallen naast grotere longdelen soms ook wel kleine wiggen verwijderd.

Hoofdstuk II

De werkwijze

Het gereseceerde longdeel werd steriel opgevangen en binnen 4 uur op het laboratorium onderzocht in een entkast met luchtafzuiging. Door het gebruik van gesteriliseerde doeken op het tafelblad, steriele handschoenen en instrumenten, werd de kans op verontreiniging zo klein mogelijk gehouden. Het longdeel werd bekeken en betast om de röntgenologisch waargenomen afwijkingen te identificeren met de aanwezige longhaarden. Deze werden meestal vanaf de pleura ingesneden; kleine haardjes werden in hun geheel, soms in groepjes gekweekt, grote ongeveer voor de helft. Behalve de inhoud van cavernes en haarden werd apart ook een deel van de kapsel gekweekt; als de haard ongelijkmatig van consistentie of zeer groot was, werd meer dan één portie genomen. Bij haarden, zonder duidelijke kapsel in niet luchthoudend weefsel gelegen, werd waarschijnlijk vaak iets van het omringende weefsel meegekweekt. Voor elke haard werden aparte instrumenten gebruikt, cavernes en grote haarden werden het laatst geopend. Als er weinig afwijkingen waren, werd uit alle haarden materiaal voor kweek genomen, waren er veel, dan werd een zo representatief mogelijke keuze van hoogstens 10 monsters gedaan.

Kweekmethode.

Week of dun-vloeibaar materiaal werd op een objectglaasje verwreven en dan er afgestreken in een langwerpige glazen mortier met cilindrische stamper, een z.g. Griffith buis. Vast of taai materiaal werd op het objectglaasje eerst in kleine stukjes geknipt. Het materiaal werd in de mortier verwreven met 1 à 2 cc NaCl. oplossing 0,9 %, waardoor een troebele suspensie ontstond, die na bezinking van de grovere deeltjes werd geënt op 2, 4 of 6 Löwenstein-Jensen bodems. In ongeveer de helft van het aantal monsters werd met 0,5 cc van deze suspensie ook een cavia subcutaan geënt. De voedingsbodems werden

18 uur horizontaal neergelegd en daarna bij 37° bebroed en elke 2 weken bekeken. De eindaflezing vond na 16 weken plaats.

	2	4	6	8	10	12	14	16 weken
aantal positieve kweken	3	18	11	7	6	1	1	—

TABEL 4. DE TIJDSDUUR, VERLOPEND VOORDAT GROEI OP DE LÖWENSTEINBODEMS WERD WAARGENOMEN

Period of incubation before growth appeared

Zoals in tabel 4 is te zien, verschenen in vrij veel gevallen de bacteriekolonies pas na langdurige incubatie. Dit betrof kweken met schaarse groei.

Het materiaal van 100 resectiepreparaten werd geënt op Löwenstein-Jensen bodems, aan de helft waarvan 1,5 cc pyrodruivenzuur per 300 cc van de zoutoplossing was toegevoegd. Hierop ontstond noch frequenter, noch rijkelijker groei dan op de ongewijzigde bodems. Verontreiniging van de voedingsbodems met schimmels werd waargenomen in 27 van de 255 onderzochte preparaten. Van deze 27 preparaten werden 138 monsters gekweekt, waarbij er 36 keer op één of meer buizen verontreiniging plaats vond. Dit betrof 9 keer alle van het monster ingezette buizen.

Er werden bloedplaten en Levinthal-agars ingezet met de inhoud van cavernes, verweekte haarden en met secreten, aangetroffen in bronchi. Hierdoor werden 2 keer haemophilus influenzae gevonden in met mucopus gevulde bronchi achter een afsluiting bij primaire tuberculose. In de Gram-preparaten bevestigde de vondst van trilhaarepitheel in mucopurulent materiaal enige keren het vermoeden, dat een met dit materiaal gevulde gladwandige holte een gedilateerde, afgesloten bronchus was.

Microscopisch onderzoek op tuberkelbacteriën.

Nadat het materiaal uit de longlaesies van de objectglaasjes was genomen en deze gelijkmatiger waren uitgestreken, werden ze volgens Ziehl-Neelsen gekleurd.

Het aantal hierin gevonden bacteriën werd aangegeven naar de volgende schaal:

+ 1: tot 10 bacteriën in totaal na 20 minuten zoeken.

+ 2: tot 20 bacteriën per 5 gezichtsvelden.

+ 3: 20—50 bacteriën per 5 gezichtsvelden.

+ 4: 50—100 bacteriën per 5 gezichtsvelden.

+ 5: meer dan 100 bacteriën per 5 gezichtsvelden.

Verschillende delen van een uitstrijkje werden bekeken. Voor het onderzoek werd een binoculair microscoop met oculair $6\times$ en objectief $100\times$ gebruikt. (zie ook BRONKHORST en KRAAN, 1949). Hoewel deze indeling opgesteld is voor het bepalen van de bacteriedichtheid in sputum, waar ze een waardevol hulpmiddel bleek te zijn voor het diagnostiseren van onbehandelde cavernes en het vervolgen van hun verloop, leek ze ook bruikbaar om een indruk te krijgen van de bacteriedichtheid van het onderzochte materiaal.

Bij het onderzoek op tuberkelbacteriën in het uitgestreken materiaal van een laesie is het niet mogelijk een indruk te krijgen van de plaats in die laesie waar zich de bacteriën bevonden, zoals dit wel mogelijk is in op bacteriën gekleurde histologische coupes.

In vergelijking met de uitkomsten van anderen (HALL 1953, CANNETTI 1954) werden in onze gevallen in een hoog percentage der haarden (ruim 90 %) bacteriën gezien. Het lijkt ons niet onwaarschijnlijk, dat kleine aantallen bacteriën gemakkelijker in uitgestreken materiaal dan in coupes worden opgemerkt. Ook vonden anderen (WAYNE 1956, ADLER 1955), die een druppel sediment van het reeds geheel verwreven en gesuspenseerde materiaal onderzochten, niet vaker bacteriën dan wij.

Caviaproeven.

Bij de ingezette caviae werd na ± 8 weken de reactie nagegaan op intracutane injectie van 0,1 cc 1 % oud-tuberculine. De aflezing vond plaats na 3 etmalen en werd positief geacht bij roodheid en zwelling van minstens 0,5 cm. Meestal was de infiltratie ruim 1 cm. in doorsnee en vrij vaak was er blaarvorming en necrose van de opperste huidlagen. Twijfel omtrent wèl of niet positief zijn van de reactie bestond zelden.

Na 3 maanden of bij sterfte vóór die tijd werden de caviae geseceerd. Wanneer tuberculeuze afwijkingen werden gevonden, werden deze als volgt geclassificeerd (zie VAN DIJK 1957, GERNEZ-RIEUX 1955):

- Groep O: Mantoux-reactie positief, geen macroscopische afwijkingen.
- Groep I: Mantoux-reactie positief, pus op de injectieplaats, eventueel vergroting van regionale lymfklieren.
- Groep II: Pus op de injectieplaats, verkazing van regionale lymfklieren, hoogstens 3 zichtbare haardjes in de organen.
- Groep III: verkaasde lymfklieren, geringe orgaan tuberculose.
- Groep IV: uitgebreide, gegeneraliseerde tuberculose.

Van pus en organen met afwijkingen werden na verwrijving en behandeling met loog Löwensteinbodem ingezet. Als geen afwijkingen werden gevonden, werd een deel van de milt gekweekt. Als twijfel bestond aan de aard van de gevonden afwijkingen werd soms histologisch onderzoek verricht (pathologisch-anatomisch laboratorium van de Rijks-Universiteit te Groningen). Bij sommige caviae, die aan een intercurrente aandoening na 2 à 3 weken succombeerden, werd op de injectieplaats enige pus aangetroffen, waaruit geen bacteriën konden worden gekweekt, noch in grote getale werden gezien in het Z.N. preparaat. Deze pusvorming leek een reactie op het ingespoten materiaal.

Hoewel de meeste longlaesies tuberkelbacteriën bevatten, niet zelden zeer talrijke, ontstonden bij de caviae toch gewoonlijk geen tuberculeuze afwijkingen en bleef de Mantoux-reactie negatief.

Over de uitkomst van de Mantoux-reactie in verband met de aanwezigheid van met het oog zichtbare afwijkingen en positieve orgaan kweken namen wij het volgende waar:

Van de 678 caviae, ingezet met materiaal uit longlaesies, werd de reactie verricht bij 595 (= 100 %).

Reactie negatief, *geen* afwijkingen gevonden bij 530 (= 89 %).

Reactie positief, *wel* afwijkingen gevonden bij 47 (= 8 %).

Reactie negatief, *wel* afwijkingen gevonden bij 7 (= 1 %).

Reactie positief, *geen* afwijkingen gevonden bij 11 (= 2 %).

Bij deze laatste 11 caviae, waarbij dus een foutief positieve reactie leek te bestaan, waren er echter 6, waarbij op de voedingsbodems, ingezet met materiaal uit dezelfde Griffith buis, enkele kolonies groeiden, zodat het waarschijnlijk lijkt, dat deze dieren tengevolge van enige bacterievermeerdering zijn getuberculiniseerd, zonder dat na 3 maanden zichtbare afwijkingen aanwezig waren en bacteriën uit de milt gekweekt werden. Vier van deze 6 populaties bleken INH-resistent en verminderd virulent voor de cavia te zijn.

De uitkomst van de caviaproef is positief genoemd in de volgende gevallen:

1. Positieve Mantoux-reactie met zichtbare afwijkingen, ook bij negatieve orgaankweken.
2. Positieve Mantoux-reactie zonder zichtbare afwijkingen maar met positieve miltkweek.
3. Zichtbare afwijkingen en positieve orgaankweken met positieve of negatieve Mantoux-reactie.
4. Negatieve Mantoux-reactie met zichtbare afwijkingen, histologisch van tuberculeuze aard.
5. Negatieve Mantoux-reactie, geen zichtbare afwijkingen, wel positieve miltkweek.

De uitslag is negatief genoemd bij positieve Mantoux-reactie zonder verdere aanduiding van tuberculose.

De gevoeligheid van de cavia ten opzichte van de Löwensteinkweek voor de isolatie van de bacteriën uit de longhaarden was bij 678 ingezette caviae als volgt:

Cavia positief en Löwenstein positief: 35

Cavia positief en Löwenstein negatief: 21

Cavia negatief en Löwenstein positief: 13.

Een dergelijk licht overheersen van de caviaproef boven de Löwensteinbodem zagen ook RIST e.a. (1956a).

In 11 van de 13 gevallen met negatieve cavia groeiden er minder dan 5 kolonies op de voedingsbodems. Mogelijk zijn in enkele van deze gevallen geen levensvatbare bacteriën in de cavia gebracht. (zie ook MEISSNER e.a. 1956a).

Virulentiebepalingen.

Van de meeste gekweekte populaties werd de virulentie voor de cavia bepaald. Voor het begrip virulentie werd de definitie genomen, zoals die gegeven is door de Trudeau Society (1952):

"A microorganism is said to be pathogenic when it is capable of causing disease by multiplication in any host; it may be pathogenic for one species of host and non pathogenic for another. Virulence refers to the degree of pathogenicity of a particular strain of micro-organism for a specific host under a specific set of experimental conditions; in particular, the term is used when comparing strains of pathogenic microorganisms which are very similar."

Hiertoe werden caviae ingezet met 0,2 mg. vochtig gewicht van een goed gegroeide overenting van reeds geïsoleerde populaties. De hierbij na 3 maanden aangetroffen afwijkingen werden gegroepeerd zoals reeds is aangegeven. De Mantoux-reactie van 97 aldus voor een virulentiebepaling ingezette caviae viel aldus uit:

17 keer — groep O	: Mantoux-reactie positief	} 14
	orgaankweek negatief	
	Mantoux-reactie positief	} 3
	orgaankweek positief	
26 keer — groep I of II	: alle Mantoux-reacties en orgaankweeken positief.	
54 keer — groep III of IV:	Mantoux-reactie positief	} 53
	orgaankweek positief	
	Mantoux-reactie positief	} 1
	orgaankweek negatief	

Groep O met positieve Mantoux-reactie zonder positieve orgaankweek kwam dus nogal eens voor, vooral bij INH-resistente bacteriepopulaties. Hetzelfde werd door GERNEZ-RIEUX (1955) waargenomen. De entdosis van 0,2 mg bacteriën is hoog, toch is hiermee een duidelijk verschil waarneembaar tussen virulente en verminderd-virulente bacteriepopulaties. Bij deze laatste zijn na 3 maanden weinig afwijkingen (meer) te zien, terwijl virulente bacteriën in die tijd een gegeneraliseerde tuberculose hebben veroorzaakt. Ook is het met

deze hoge dosis misschien gemakkelijker om kleine aantallen virulente, gevoeliger bacteriën, die eventueel in populaties met verminderde virulentie aanwezig zijn, de kans te geven zich te vermeerderen (RIST e.a. 1955, 1956a).

Resistentiebepalingen.

Van al de op de voedingsbodems en uit de cavia-organen gekweekte bacteriepopulaties werd de resistentie tegen Sm, PAS en INH bepaald door middel van een indirecte bepaling. Hoewel directe bepalingen misschien een zuiverder inzicht in de samenstelling van de populaties zouden hebben gegeven, omdat soms resistente bacteriën minder snel groeien en daardoor bij het overenten verloren kunnen gaan, waren deze in verreweg de meeste gevallen niet uitvoerbaar door het grote aantal negatieve kweken en zeer schaars begroeide kweekbodems. Hierbij was vaak nog een tussenkweek nodig, die op de vaste eibodem volgens Beeuwkes werd verricht.

De bepaling werd verricht op vaste voedingsbodems volgens Beeuwkes, hierop werd per buis 1,3 mg bacteriën geënt in de vorm van een suspensie, gemaakt van de vers gegroeide overenting van de oorspronkelijke kweek. De suspensies werden gemaakt in Griffith buizen en de troebelingsgraad ervan werd gemeten in een Biophotocol. De buizen bevatten de volgende concentraties aan antibiotica:

Sm : 0; 1; 10; 30 en 100 γ /cc.

PAS: 0; 0,3; 1; 10 en 30 γ /cc.

INH: 0; 0,1; 0,3; 1; 10 en 30 γ /cc.

De eindaflezing had plaats na 3 weken.

Bij deze entdosis werd gevoeligheid voor Sm aangenomen bij groei op de 0 en 1 γ buis, maar negatief blijven van de hogere concentraties. Voor PAS mocht naast een flinke groei op de controlebuis een zwakke groei op de 0,3 γ buis voorkomen; groei op de 1 γ buis en hoger en ook het voorkomen van veel aparte kolonies op de 0,3 γ buis werd als teken van verminderde gevoeligheid opgevat.

Op de INH-reeks werd naast een sterke groei op de 0 γ buis een zwakke groei of een aantal losse kolonies op de 0,1 γ buis nog niet als teken van resistentie opgevat, wel echter een even sterk lijkende groei als op de controlebuis. Het voorkomen van meer dan enkele

kolonies op de hogere concentraties duidde op bestaande resistentie. Bij onze zware beënting liggen de grenzen vrij hoog. Daar er van nature vooral tegen INH in alle populaties al wel enkele resistente bacteriën aanwezig zijn, groeien bij sterke beënting nogal eens enkele kolonies bij de hogere concentraties zonder dat dit op toegenomen resistentie behoeft te wijzen. (zie ook MULDER 1960).

Moeilijker is bij deze werkwijze de hoeveelheid zwak resistente bacteriën te bepalen, daar bij dichte confluerende groei op de 0 en 0,1 γ buis niet is te bepalen, hoeveel bacteriën zich daar hebben willen ontwikkelen. Vooral CANETTI (1955), RIST (1955) en KENNEY (1955) hebben hierop gewezen en daarom aangeraden ook bepalingen te verrichten met kleine entdosis op een voedingsbodem met groot oppervlak, waardoor het aantal kolonies op de controlebodem telbaar is (maximaal ± 500) en de aantallen op de hogere concentraties hiermee vergeleken kunnen worden. Hoewel deze methode zeker fouten van ongeveer 50 % kan geven, maakt ze toch een enigszins kwantitatieve beoordeling mogelijk. Niet te ontdekken er mee zijn kleine aantallen gevoelige of zwak resistente bacteriën, wanneer die in een percentage van 0 tot ongeveer 25 % voorkomen in populaties, welke voor een groot deel sterker resistent zijn.

Deze kwantitatieve bepaling werd op ons laboratorium verricht in horizontaal neergelegde, platte flesjes met een oppervlak van 34 cm². Hierop werden per flesje 0,06 mg bacteriën geënt, hetgeen op de controleflesjes 100 à 400 kolonies deed groeien. De bepaling werd steeds in duplo verricht. Bij gevoelige populaties ontstond geen groei op de flesjes met INH.

Voorbeeld: als op de 0 γ flesjes 285 en 324 kolonies en op 0,1 γ flesjes 115 en 79 kolonies groeiden, dan was de groei op 0,1 γ $(115 + 79)/(285 + 324) \times 100 = 30 \%$, en was ongeveer 30 % van de populatie resistent tegen minstens 0,1 γ INH.

Katalaseproef.

Op de meeste gekweekte populaties is ook de katalaseproef verricht. MIDDLEBROOK (1954) beschreef als eerste, hoe vele tegen INH resistente stammen een tekort aan katalase hebben, waardoor zij niet of in onvoldoende mate waterstofperoxyde kunnen splitsen. Om

dit vast te stellen, goot hij op de begroeide voedingsbodems een mengsel van gelijke delen 30 % waterstofperoxyde en 10 % Tween 80 en zag dan binnen 30 seconden talrijke gasbelletjes ontstaan bij vers gegroeide, voor INH gevoelige populaties, maar niet of laat en in verzwakte mate bij de meeste resistente populaties. Deze methode is door ons gevolgd, waarbij 10 % Tween 80 vervangen werd door Teepol. Later werd naar voorbeeld van MEISSNER (1956b) een deel van de begroeiing van een buis op een objectglaasje gelegd en werd hierop wat peroxyde-Tweenoplossing gedruppeld; daarbij ontstond na 4—6 seconden gasvorming, terwijl ook een zwakke gasontwikkeling na iets langere tijd met een loep goed waarneembaar was. Deze methode geeft een grotere schakering in uitkomst dan de eerst door Middlebrook aangegevene en vergt ook niet de hele opbrengst van de gebruikte kweekbuis.

Hamsters.

Van een aantal INH-resistente populaties werd ook de virulentie voor de goudhamster (*mesocricetus auratus*) bepaald. Deze dieren werden hiertoe intraperitoneaal met 0,05 mg bacteriën geënt. Wanneer ze succombeerden of anders na 8 maanden werden lymfklieren, milt, lever, nieren en longen geïnspecteerd. Van deze organen werd een Z.N.-preparaat gemaakt en een Löwensteinkweek ingezet waarvan bij groei de resistentie tegen INH werd bepaald.

9 INH-gevoelige, voor de cavia virulente, populaties uit sputa afkomstig gaven bij deze hamsters een overlevingstijd van gemiddeld 67 dagen (31 tot 160). De Z.N.-preparaten van de organen vertoonden zeer veel bacteriën, de orgaankweken waren meestal sterk positief. Vooral bij vroeg gestorven dieren waren macroscopisch nauwelijks afwijkingen zichtbaar, het vaakst nog als kleine witte puntjes op de lever. Dieren, die langer leefden, vertoonden longhaarden en kleine haardjes in lever en milt, terwijl dan soms ook verkasde lymfklieren in de buik te zien waren. Verscheiden keren waren verrassend grote aantallen kleur- en kweekbare bacteriën aanwezig in hamsterorganen, die op het oog geen afwijkingen vertoonden. Van enkele gevallen zijn de organen histologisch onderzocht (pathologisch-anatomisch laboratorium van de Rijks-Universiteit te Groningen).

In milt en lever bleken er dan uitgebreide gebieden met tuberculeus granulatiweefsel te zijn, in de longen infiltraties zonder duidelijk specifieke kenmerken. Ook DENNIS (1949) en GRIFFITH e.a. (1939) vonden bij infectie met virulente bacteriën vooral de longen aangedaan, lever en milt minder. Hierin bestonden vooral compacte noduli van epitheloidcellen met intracellulair zuurvaste bacteriën, die zich in de longen tot grote gebieden van prolifererende pneumonie uitstrekten. Perifere lymfocyteninfiltraten en fibroblastenzones om de haarden ontbraken, reuscellen kwamen zelden voor, het meest nog in de lever, er was weinig verkazing.

Het gelukte ons niet om met intracutane injectie met oud-tuberculine een positieve huidreactie te krijgen (evenmin als DENNIS).

GERNEZ-RIEUX (1955) vond met gevoelige bacteriepopulaties een overlevingsduur van ± 33 dagen (entdosis 0,06 mg.), DENNIS 120—144 dagen (entdosis 0,01 mg.), GRIFFITH 100 dagen (1—5 mg. entdosis). GERNEZ-RIEUX vond bij bacteriepopulaties, die geheel resistent tegen 5 γ INH waren en van verzwakte virulentie voor de cavia, een verdubbelde overlevingstijd van de hamster (± 69 dagen), zodat hij concludeerde dat deze bacteriën voor de hamster wel virulent waren. Wij vonden (zoals in hoofdstuk V zal blijken) bij enkele sterk resistente en verzwakte populaties na 8 maanden nog geen zichtbare afwijkingen, negatieve Z.N.-preparaten en konden uit de organen slechts enkele kolonies even sterk resistente bacteriën terugkweken. De met enkele andere resistente populaties ingespoten hamsters succombeerden eerder. Uit sommige van deze hamsters bleken populaties met nog even resistente bacteriën als waren ingespoten terug te kweken te zijn. Uit andere verschenen in de orgaankweken grotendeels gevoelige populaties, die waarschijnlijk in de ingespoten populatie aanwezig waren geweest en zich in de hamster hadden vermeerderd. Van deze gevoelige fractie was in deze gevallen in de kwantitatieve resistentiebepaling en in de orgaankweken van na 3 maanden geseceerde caviae niet gebleken. RIST (1956a en b) vond na lang inzetten van caviae met schijnbaar geheel resistente populaties met afgenomen virulentie soms ook na 6 of 8 maanden gevoelige en weer virulente populaties, die dan niet steeds tot aanzienlijke afwijkingen hadden geleid.

Hoewel het aantal hamsterproeven door ons verricht te klein is om er conclusies uit te kunnen trekken over hun waarde bij het onderscheiden van INH-resistente populaties met verminderde virulentie voor de cavia, suggereren de uitkomsten de mogelijkheid, dat er onder de onderzochte populaties toch verschillen bestaan in hun virulentie voor de hamster.

a) Bij 3 populaties, alle resistent tegen 30 γ INH, werden in de hamsters na 8 maanden macroscopisch geen afwijkingen gezien, de Z.N.-preparaten waren negatief, de orgaankweken schaars gegroeid. Deze populaties echter groeiden vrij moeilijk op onze kweekbodems, zodat het mogelijk is, dat zij geënt zijn met een kleiner aantal levende bacteriën dan andere hamsters.

b) Bij 2 populaties waarvan de resistentiegraad laag was (tegen 0,1 en 1 γ), maar waar het katalasegehalte sterk was afgenomen, evenals de virulentie voor caviae, succombeerden de hamsters in enkele maanden en was er sterke bacteriegroei uit de organen. Deze weer gewonnen populaties leken nog dezelfde graad van resistentie tegen INH te vertonen en dezelfde afgenomen virulentie voor de cavia.

c) In andere gevallen met een gemengde populatie, die weinig gevoelige, voor de cavia virulente, bacteriën herbergden, zodat ze uit gedurende 3 maand instaaende caviae nog niet gekweekt werden, fungeerde de lang instaaende hamster op dezelfde wijze als de lang instaaende cavia (R1ST) als medium waarin de gevoelige virulente bacteriën zich weer konden vermeerderen en gaan overheersen over de resistente bacteriën in de populatie. Dit laatste pleit er voor, dat deze INH-resistente bacteriën voor de hamster minder virulent waren dan de gevoelige.

Na de beschrijving van de eigen werkwijze worden hier nog enkele van de vele pogingen vermeld, die ondernomen zijn om de bacteriën uit de tuberculeuze laesies beter te doen groeien. Hiertoe horen maatregelen om te verhoeden, dat de bacteriën tijdens de bewerking onnodig worden beschadigd, pogingen om de schadelijke stoffen, die de bacteriën in de kaas omringen te verwijderen vóór ze op de voedingsbodem gebracht worden en veranderingen, die

aan de voedingsbodems worden aangebracht, om hetzij de verandering van milieu te verkleinen, hetzij stoffen toe te voegen, die deze bacteriën misschien extra nodig hebben.

Behandeling met loog of zuur, welke nodig is bij materiaal, dat verontreinigd is met andere micro-organismen, kan een aanzienlijk deel van de tuberkelbacteriën (tot 90 %) doden (TISON 1952, GRAY e.a. 1954, YEGIAN 1952). Ook gaan bij het centrifugeren, dat dan nodig is om een voldoende concentratie van de bacteriën te krijgen, bacteriën te gronde (COLETSOS, 1959). Daar het reeds aan MEDLAR e.a. (1952) bleek, dat in gereseceerde longdelen slechts zelden andere micro-organismen aanwezig zijn, is het van belang de preparaten zo steriel mogelijk op te vangen en steriel en spoedig te verwerken.

NaCl. oplossing 0,9 % is als vloeistof om het materiaal in te verwrijven en mee te verdunnen, waarschijnlijk niet het meest geschikte, daar het, zoals COLETSOS (1959) aantoonde, een deel der bacteriën kan doden. Toch is het door velen hiervoor gebruikt. (BERNARD e.a. 1954, TISON e.a. 1954, MEISSNER 1956 en BECK e.a. 1952).

Daar waarschijnlijk in de tuberculeuze kaas stoffen aanwezig zijn, die schadelijk zijn voor de bacteriën (DUBOS 1952) en er bovendien vaak antibiotica in voorkomen, hebben velen getracht door uitwassen van het materiaal deze stoffen te verwijderen (HOBBY e.a. 1954, d'ESOPPO e.a. 1953, STEWART e.a. 1956).

Ook wordt wel een bovine-albumine suspensie gebruikt voor het uitwassen in een poging hiermee ongewenste stoffen te absorberen; anderen die deze vloeistof vergeleken met een vloeistof zonder de bovine-albumine, zagen geen verschil tussen beide in resultaat (JOHNSON e.a. 1956, BERNSTEIN e.a. 1954).

Ook in sputum heeft men bij patiënten onder chemotherapie soms te maken met bacteriën, die zich niet laten kweken. Hierbij bestaat dan de mogelijkheid, dat in de sputumvlokken of de saliva aanwezige chemotherapeutica op de voedingsbodem belanden en zo de groei remmen. MEISSNER (1956) kon door uitwassen van het sputum, enten in vloeibare bodem — hetgeen sterke verdunning geeft — en toevoeging van haemine — dat in het vocht aanwezig INH onwerkzaam maakt — geen betere kweekresultaten krijgen en concludeert, dat de INH aan de bacterie reeds een zekere schadelijke

werking moet hebben uitgeoefend, welke niet afwasbaar is. BARCLAY e.a. (1953) toonde aan dat met C¹⁴ gemerkt INH door in voedingsbodems groeiende gevoelige tuberkelbacteriën wordt geabsorbeerd.

Bij de keuze van een voedingsbodem is het van belang, dat een vaste bodem minder kans op verontreiniging geeft dan een vloeibare. In vergelijking met andere blijkt de Löwenstein-Jensen bodem nog een van de beste te zijn voor het isoleren van tuberkelbacteriën (JENSEN 1954, BOISVERT e.a. 1952, BOJALIL e.a. 1957a, MELVIN e.a. 1951, SMITH 1951).

COHN e.a. (1954) vonden, dat tegen INH resistente bacteriën vaak een tekort aan katalase hebben, zodat zij niet in staat zijn waterstofperoxyde, dat als tussenproduct bij hun stofwisseling ontstaat, verder om te zetten. Door toevoeging van katalase of pyrodruivenzuur aan hun voedingsbodems konden zij vaker en rijkelijker deze bacteriën uit sputum kweken. Ook STONEBRINK (1958) kreeg bij tegen INH resistente bacteriën betere groei met zijn pyrodruivenzuur bevattende bodem. MIDDLEBROOK (1957) kon echter uit de resectiepreparaten niet meer groei verkrijgen met zijn katalase bevattende bodems, zodat voor de onkweekbaarheid van de bacteriën hieruit nog andere factoren dan katalase-deficientie moeten bestaan. Van andere toevoegingen aan media teneinde vaker groei te verkrijgen kunnen genoemd worden quartzstof (STEELE e.a. 1955, STEENKEN 1952), een hoger of lager zuurstof- en koolzuurgehalte (WAYNE 1954), actieve kool, albumen en zetmeel (YEGIAN 1952), alle zonder resultaat. HOBBY e.a. (1954) kreeg met een vloeibare bodem volgens Dubos met albumine, waaruit ze regelmatig een deel overentte op nieuwe bodems, een hoog percentage positieve kweken, maar moest vaak vele maanden incuberen. Zij gebruikte met hetzelfde materiaal niet tevens andere bodems ter vergelijking. Anderen, die dit wel deden (RALEIGH e.a. 1955, BERNSTEIN e.a. 1955, LYON 1959), zagen dan geen verschil. Wel vinden ook ADLER e.a. (1955), CANETTI (1954) en d'ESOPPO e.a. (1953), dat minstens 3 maanden incuberen noodzakelijk is, daar de weinige kolonies vaak pas laat opkomen.

Ook het inbrengen van verwreven en verdund materiaal bij caviae bracht de meeste onderzoekers niet een aanzienlijk hoger percentage

aan positieve uitslagen dan het gebruik van kweekbodems (HUGHES 1955, HALL e.a. 1953, CANETTI e.a. 1954, MEISSNER 1957).

Bij het overzien van de verschillende methoden, die aangewend zijn om de bacteriën uit gereseceerde longlaesies te kweken, blijken er dus wel enkele handelwijzen te zijn, die de bacteriën kunnen beschadigen en andere, die mogelijk de kans op kweekbaarheid vergroten, maar er is geen methode aan te geven, waarmee uit een aanzienlijk groter aantal laesies bacteriën gekweekt kunnen worden.

Hoofdstuk III

De beoordeling van het röntgenbeeld en van de in de resectiepreparaten aangetroffen afwijkingen.

Het röntgenbeeld.

Van alle patiënten werden bij opname, in elk geval na 6 maanden behandeling en zo nodig kort voor operatie, planigrammen gemaakt van de longgebieden waarin op de overzichtsfoto en bij doorlichting afwijkingen werden gezien. Foto's die voor de opname elders waren gemaakt en foto's uit eventuele vroegere ziekteperioden werden vergeleken met het beeld bij opname. Van een aantal patiënten, bij wie daar aanleiding toe bestond, werden bronchogrammen gemaakt. Zo was het mogelijk een overzicht te krijgen van de aard en de localisatie der afwijkingen bij opname in vergelijking met vroegere afwijkingen en om de veranderingen tijdens de behandeling waar te nemen.

Hoewel röntgenfoto's niet meer kunnen geven dan een afschaduwing van veranderingen in de longen, die een zekere grootte hebben en een andere doorlaatbaarheid voor röntgenstralen dan het normale longweefsel, is ons vermogen om deze beelden juist te interpreteren aanzienlijk toegenomen door het vergelijken van vele resectiepreparaten met de bijbehorende röntgenfoto's in het verleden (RIJNBERG 1954). Toch gebeurde het wel, dat op plaatsen, waar kaashaardjes vermoed werden, deze in het resectiepreparaat niet gevonden werden, terwijl vrij uitgebreide verkaasde afwijkingen bestonden wanneer het röntgenbeeld gebieden met voornamelijk induratie had doen diagnostiseren. Ook werden in een paar gevallen cavernes, die op het planigram aanwezig leken te zijn, niet aangetroffen.

Vergrote hilusklieren en beschaduwing in het gebied van bepaalde segmenten werden gezien bij enkele patiënten, die met deze gevolgen van primair tuberculose werden geopereerd. Bij een aantal patiënten werden bronchusafwijkingen gezien, zowel in longdelen, waarvan de bronchus afgesloten was geweest, als in gebieden, die door een langdurend ziekteproces geschrompeld waren. Enkele keren gaf een

stop op het bronchogram de ligging van een longhaard aan, die hiermee in een bepaald segment gelocaliseerd werd. De meeste aandacht werd geschonken aan:

- a) cavernes en hun sluitingsvormen,
- b) haardvormige afwijkingen.

Cavernes.

Als cavernes werden beschouwd scherp afgegrensde, regelmatige of grillige ophelderingen, welke abrupt overgaan in de omringende randschaduw, die smal kan zijn of breed en wazig naar perifeer uitlopend, terwijl deze ook kan overgaan in beschaduwde, geschrompeld longweefsel. Enkele cavernes behielden dit aspect van actieve caveerne — waarin een vloeistofspiegeltje aanwezig kon zijn — en werden weinig of niet kleiner tot aan het moment van operatie; andere werden aanzienlijk kleiner, waarbij de randschaduw vaak ook smaller werd. Daarbij maakte de opheldering dan ook vaak een minder uitgeponste indruk, deze werd minder helder, ging vager over in de randschaduw. Deze verandering van aspect is getoetst aan het uiterlijk en de bacteriedichtheid van de gereseceerde caveerne.

Onder de gereseceerde cavernes was er slechts een enkele, die röntgenologisch van een normaal caveernebeeld was overgegaan in een dunne ovale ringschaduw, zoals dit als "image bulleuse" is beschreven. Bij het verdwijnen van de opheldering konden, zoals o.a. door NAUTA (1946), BERNARD e.a. (1954) is beschreven, de volgende beelden ontstaan:

- a) de caveerne was in een — meestal wat kleinere — haardvormige, tamelijk afgeronde schaduw veranderd;
- b) er was een kleine ster- of lijnvormige configuratie gevormd, of een kleine haardvormige schaduw met uitlopers in het omgevende longweefsel;
- c) temidden van andere schaduwen in het röntgenbeeld, veroorzaakt door andere afwijkingen, was geen configuratie met enige zekerheid als cavernelitteken te duiden.

Haardvormige afwijkingen.

Naast in den beginne exsudatieve processen, waarbij vrij dunne, wazig begrensde schaduwen tijdens de behandeling vrijwel verdwenen of veranderden in één of enkele goed afgegrensde haardjes, kwamen haarden voor, die, hoewel reeds goed afgegrensd, tijdens de behandeling kleiner werden. Daarnaast bestonden in een aantal gevallen dichte, scherp afgegrensde haarden, die tijdens de behandeling niet veranderden. Onder de haarden met dichte schaduw, vooral indien ze bolvormig of ovaal van vorm waren, kwamen een aantal voor, die hetzij centraal, hetzij bij de plaats waar volgens het röntgenbeeld een bronchus de haard naderde, hetzij in de periferie als een sikkels, een opheldering vertoonden, scherp afgegrensd, klein ten opzichte van de gehele haard en steeds zonder vloeistofspiegel. Deze haarden waren röntgenologisch te onderscheiden van cavernes door de betrekkelijk geringe omvang van de opheldering, hoewel bij sommige een vollopende cavene dit beeld ook had kunnen vertonen. Vrij vaak werd de opheldering alleen op het eerste planigram gezien, soms bovendien of ook alleen op het kort vóór operatie gemaakte. Deze haarden bleven tijdens de kuur gelijk van grootte of ze werden meer of minder kleiner. In enkele gevallen werden ze als de bijna enige afwijking in de long gezien, soms omringd door enkele kleine kaashaardjes, andere keren kwamen ze naast andere haarden en soms ook cavernes voor. In grootte varieerden ze van 1 tot enkele centimeters. Naar sommige leek een bronchus met verdikte wand te lopen, andere leken vrij te liggen in het longweefsel. Het wél of niet zichtbaar zijn van een bronchus naar een dergelijke haard kan niet voor differentiatie tussen vollopende cavernes en deze — vaak tuberculoom genoemde — haarden dienen, daar een versterkte bronchustekening op het röntgenbeeld van cavernes kan ontbreken en bij tuberculomen aanwezig kan zijn (WILLEMSE 1953, RIJNBERG 1954).

De afwijkingen in het geresecteerde longweefsel.

Verkaasde hilusklieren waren in slechts enkele resectiepreparaten aanwezig; vaak lagen ze meer centraal in de hilus dan het resectievlak van de bronchus lag en werden ze niet verwijderd; andere keren werden ze bij de resectie geopend en geledigd.

In enkele resectiepreparaten bestond een afsluiting van één of meer der vertakkingen van een segmentbronchus, waarachter de bronchi verwijd waren en gevuld met purulent of slijmig materiaal. Hierin waren soms een klein aantal kleurbare tuberkelbacteriën aanwezig, vaker werden ze niet gezien. Van de meeste van deze bronchi zag de wand er glad en roze uit.

In de meer distale bronchi beschreven RENAULT e.a. (1954) ulcererende en tot verkazing leidende tuberculeuze ontstekingen in de wand. Deze vonden zij ook in door CHADOURNE e.a. (1955, 1956) klinisch waargenomen en met bronchografie onderzochte patiënten, die resectie ondergingen na een antibiotische behandeling van minstens 6 maanden. Hierbij leek de histologische activiteit van het ontstekingsproces in de bronchus nog al eens minder goed te zijn afgenomen dan die van de parenchymhaarden. Zij waren van oordeel, dat deze bronchusafwijkingen, vooral indien aanwezig in de kleinste bronchi en indien niet sterk verkazend, gemakkelijk gemist kunnen worden bij het röntgenologisch en anatomisch onderzoek en dat ze bij verkazing, die het lumen afsluit, voor parenchymhaardjes gehouden kunnen worden. Hoe vaak dergelijke afwijkingen in onze preparaten voorkwamen is onzeker. Als aanzienlijke verkazing ontbrak, zullen ze niet voor bacteriologisch onderzoek genomen zijn, omdat ze niet herkend werden; als deze wel aanwezig was, zijn ze misschien wel onderzocht, maar tot de kleine kaashaardjes gerekend. MEDLAR (1955), DOUGLASS e.a. (1959) vonden ook, maar minder frequent dan CHADOURNE en RENAULT, plaatselijk necrotische endobronchitis in kleine bronchi en beschreven de gelijkenis, die deze met parenchymhaardjes kon vertonen. In enkele gevallen, waar zich als voortzetting van een open bronchustakje een langgestrekt, smal, verkaasd gebiedje voordeed, hebben wij gemeend te mogen aannemen, dat dit een gebied van verkaasde endobronchitis betrof.

Cavernes.

De cavernes, die gevonden werden, varieerden in grootte, wanddikte en inhoud. Grootte en inhoud waren niet steeds te beoordelen, omdat enkele, subpleuraal in met de thoraxwand vergroeide longen ge-

legen, bij de operatie geopend en gedeeltelijk leeg gezogen waren. Ook wanneer de pleurabladen niet vergroeid waren, was de pleura vaak verdikt en ingetrokken boven de caverne.

Sommige cavernes hadden een grauwe, beslagen wand, vaak met hier en daar aan de wand vastzittende lagen verkaasd weefsel met in het lumen vaak enig purulent materiaal en enkele keren kalkbrokjes. De bronchus naar de meeste van deze cavernes stond in ruime verbinding met het lumen, de wand was soms vrij dun, soms een dikke bindweefsellaag. Hiernaast kwamen cavernes voor, waarvan de wand naar het lumen een roze, soms iets korrelig, soms een glad aspect had. Vanuit en naar deze cavernes was de bronchus meestal niet te sonderen. De inhoud bestond uit lucht en één keer uit helder vocht en stond in een paar gevallen enigszins onder spanning. In enkele gevallen was er in een uitbochtinkje of op de bodem van zo'n caverne nog een beetje purulente of kazige substantie. In deze groep cavernes leek de wand min of meer gereinigd, maar daar geen histologisch onderzoek werd verricht uit verschillende delen van deze cavernewanden is niet te zeggen in hoeverre een necrotische binnenlaag of tuberculeus granulatieweefsel hier nog aanwezig was. Soms was de wand dun, soms was een vrij dikke bindweefselwand aanwezig. Volgelopen cavernes bevatten binnen een bindweefselkapsel van wisselende dikte en waaraan soms nog een vaste necrotische massa hechtte, een vaak brokkelige massa van vaste kaasdeeltjes in een wekere of vervloeide, soms wat slijmige massa of een gelijkmatig weke inhoud. Deze massa overheerste in volumen die van de bindweefselige wand. De totale doorsnee was van $\pm 0,5$ —2 cm. De bronchus naar deze geheel gevulde restholten was, op een enkele keer na, niet te sonderen.

Daarnaast waren er littekens, die geheel uit een min of meer ster-vormige hyaliene bindweefselmassa bestonden, variërend van ongeveer 0,5 tot ongeveer 2 cm in grootte, waarin soms centraal of wat meer perifeer nog een zeer klein gebiedje met vaste kaas of wat week slijmig materiaal te vinden was. De bronchus tot in zo'n centraal opgevuuld holtetje was in geen der gevallen te sonderen. De variatie in grootte van deze littekens zal hebben samengehangen met de grootte en wanddikte van de oorspronkelijke cavernes.

Kaashaarden.

In de meeste resectiepreparaten werden kaashaarden aangetroffen, in sommige zeer weinig, in andere zeer talrijke, die dan slechts ten dele bacteriologisch onderzocht werden. In grootte varieerden ze van juist zichtbare verkaasde plekjes tot haarden van ongeveer 5 cm. Sommige lagen in donzig longweefsel, waarbij vast te stellen was of ze een zichtbaar kapseltje hadden, andere lagen in verdicht weefsel, dat deze beoordeling bemoeilijkte. Het is mogelijk, dat er onder de haarden volgelopen cavernes waren, die naar hun macroscopisch aspect een gelijk beeld kunnen vertonen als haarden met weke of vervloeide kaas en die hebben kunnen dateren uit een tijd, waarin de patiënt niet röntgenologisch werd onderzocht. Onder de kleine haarden kunnen naast verkaasde longhaarden misschien ook verkazende en met kaas gevulde delen van kleine bronchi met een tuberculeus ontstoken wand zijn geweest. De haarden zijn ook beoordeeld naar de consistentie van de kaas, zoals die zich voordeed in het verse preparaat, waarbij de volgende onderscheidingen werden gemaakt:

1. Geheel of grotendeels verkalkte haarden. Van deze zijn slechts enkele nader onderzocht.
2. Krijtige haarden met witte, vaak brokkelige kaas, waarin soms harde kalkbrokjes, maar die als geheel niet hard waren.
3. Vaste, taaie haarden met geel- of grauwgrijze kaas; deze bevatten ongeveer in het centrum nog al eens een droog spleetje of een klein wit, iets weker plekje, dat macroscopisch niet nader gedefinieerd kon worden, maar dat soms veel kalkzouten zal hebben bevat, omdat de ermee corresponderende haard op het planigram centraal dichter was dan in de periferie.
4. Week- elastische haarden, weker dan de vorige, maar met toch niet versmeerbare kaas, zoals de volgende.
5. Haarden met weke, versmeerbare kaas, meestal geel of geelwit van kleur.
6. Haarden met vervloeide inhoud, hetzij geelwit of grijsig, hetzij met een groene bijtint. Bij deze haarden bestond twijfel of het ver-

vloeide kaashaarden waren of oude, volgelopen cavernes, of in sommige gevallen ook verwijde, afgesloten en met pus gevulde bronchi, misschien niet eens van tuberculeuze aard.

7. Gemengde haarden. Terwijl de hierboven gerangschikte haarden een inhoud van gelijkmatige consistentie hadden, wordt deze groep gevormd door haarden, die grotendeels bestonden uit taaie of week-elastische kaas, maar waarvan een klein deel week of vervloeid was. Dit wekere deel lag soms in 't centrum van de haard, soms was het een ongeveer erwtgroot gebiedje op de plaats waar een bronchustak tegen de haard kwam (ook al was daarbij meestal de bronchus met een dunne sonde niet tot in de haard te sonderen), soms ook vormde het weke deel een wandstandige sikkels in het naar de pleura gekeerde deel van de haard. In een paar gevallen liepen door de vaste kaas een paar verweekte sleuven, enkele haarden leken opgebouwd uit tegen elkaar liggende kleinere, waarvan de kapsels nog in het verkaasde geheel te onderscheiden waren en bestonden er grillig gevormde verweekte stroken. De meeste haarden, waarbij een dergelijke gedeeltelijke verweking gevonden werd, waren minstens ongeveer 8 mm in doorsnee. Sommige van deze haarden hadden een duidelijk bindweefselkapseltje, bij andere lag de kaas bijna zonder overgang in het omgevende donzige longweefsel.

Enkele gereceerde laesies zijn achter in het boek afgebeeld.

Hoofdstuk IV

Resultaten van het onderzoek

§ 1. HET KLINISCH VERLOOP EN DE BEHANDELINGSDUUR VAN HET LONGPROCES IN RELATIE TOT DE BACTERIËN IN DE RESECTIEPREPARATEN.

In 246 van de 255 onderzochte resectiepreparaten, dit is in 96 %, werden in minstens 1 der onderzochte laesies tuberkelbacteriën gevonden bij kleuring. Slechts uit 63 preparaten, dat is 25 %, konden ze gekweekt worden, hetzij op voedingsbodems, hetzij alleen of tevens uit caviae. Indien in het vervolg over kweekbaarheid gesproken wordt, wordt geen onderscheid gemaakt tussen isolatie van de bacteriën op de voedingsbodem of uit caviae. Met positieve resectiepreparaten worden bedoeld diegene, waaruit bacteriën gekweekt werden. Hierbij deed zich de vraag voor of er omstandigheden bij deze 63 ziektegevallen te vinden waren, die deze kweekbaarheid mede konden verklaren. Invloed zouden kunnen hebben:

1. De aard van de gevallen bij opname:

- a) caveurneus, d.w.z. met röntgenologisch duidelijke caveurne bij opname of kort te voren, toen het ziektegeval ontdekt werd;
- b) voor zover bekend niet met cavernes gepaard gaande, maar uit een aantal kaashaarden bestaande afwijking, eventueel met een exsudatieve component;
- c) andere, d.w.z. gevolgen van primaire processen in de vorm van bronchusstenosen, met eventueel nog vergrote verkaasde hilusklieren, bronchiectasieën en obstructieënfiltraten.

2. Het verloop, zoals dat röntgenologisch tijdens de kuur te vervolgen was, zowel aan cavernes als aan de niet-caveurneuze componenten van het proces.

3. Sputumpositiviteit, hetzij blijkend uit positieve sputumkweeken, hetzij uit positieve Z.N.-preparaten, aan het begin van en tijdens de opname en speciaal in de laatste maanden preoperatief.

4. Resistentie van de bacteriën tegen één of meer van de chemotherapeutica Sm, PAS en INH, in het sputum vastgesteld.

5. De behandelingsduur, hetzij door de invloed van de chemotherapeutica, hetzij van de algemene behandeling.

In tabel 5 zijn de gevallen gerangschikt naar de behandelingsduur, zowel de hele serie, als afzonderlijk de gevallen, die tevoren resistente bacteriën tegen één of meer van de antibiotica Sm, PAS en INH in hun sputum hadden, als de hele serie minus deze groep met bekende resistentie. Met de behandelingsduur is hier bedoeld de periode, gedurende welke deze patiënten bij hun laatste kuur met antibiotica behandeld zijn. Daar de in dit onderzoek opgenomen patiënten vanaf eind 1954 werden geopereerd, vallen ze vrijwel allen in de periode, waarin een behandeling met combinaties van minstens twee antibiotica toegepast werd: meestal van Sm, PAS en INH,

Behandeling- sduur in maanden	alle gevallen			resistente sput. flora			neg. sput. of gevoelige flora		
	aant.	pos. Cu.	% pos.	aant.	pos. Cu.	% pos.	aant.	pos. Cu.	% pos.
0	3	1		1			2	1	
1	2	1	42 %			0/2	2	1	50 %
2	2	1					2	1	
3	7	3		1			6	3	
4	17	6					17	6	
5	26	7	33 %	1		1/3	25	7	33 %
6	38	14		2	1		36	13	
7	43	9		3	3		40	6	
8	30	9	22 %	2	1	4/6	28	8	19 %
9	22	3		1			21	3	
10	27	3		5	2		22	1	
11	11	0	13 %	1		4/9	10		5 %
12	8	3		3	2		5	1	
13	5	1		1	1		4		
14	1	0					1		
15	3	0	15 %			2/3	3		6 %
16	5	1		1	1		4		
17	5	1		1			4	1	
Totaal	255	63	25 %	23	11	48 %	232	52	22 %

TABEL 5. KWEEKBAARHEID VAN BACTERIËN UIT DE RESECTIEPREPARATEN IN VERBAND MET DE LENGTE VAN DE CHEMOTHERAPEUTISCHE BEHANDELINGSDUUR EN MET AAN- OF AFWEZIGHEID VAN BACTERIËLE RESISTENTIE IN DE SPUTUMFLORA

Viability of bacilli in resected specimens related to duration of chemotherapy in all cases, in cases with resistant and in cases without resistant bacilli in the sputum

in enkele gevallen werden ook middelen als terramycine, viomycine, pyrazinamide, cycloserine en nupasal gegeven. Vroegere kuren, zoals die in een aantal gevallen werden gegeven voor de perioden van activiteit van het longproces, die aan het laatste recidief voorafgingen, zijn niet meegeteld. Wel werd meegeteld de behandeling met antibiotica, die sommige patiënten na het ontdekken van een actief longproces thuis of in een andere inrichting kregen in de korte tijd, voordat ze in Beatrixoord werden opgenomen.

Uit tabel 5 blijkt dan, dat het aantal positieve resectiepreparaten afnam naarmate de behandelingsduur toenam.

Dit gold zowel voor de hele serie van 255 preparaten, als voor de grote groep in wier sputum geen resistentie van de bacteriën tegen één of meer van de middelen Sm, PAS of INH werd aangetoond, hetzij omdat nooit bacteriën tijdens de kuur uit het sputum gekweekt werden, hetzij omdat deze gevoelig waren. Voor de serie van 23 gevallen, waarbij in het sputum wel resistentie werd aangetoond, ontbrak deze correlatie. Geheel negatief was echter ook van de gevallen met niet-resistent sputum de lang behandelde groep niet.

Onder de 232 gevallen zonder aangetoonde sputumresistentie is er een significant verschil in de frequentie waarin de preparaten positief waren (voor $p = 0,01$, bepaald met de χ^2 test), tussen de groep, die korter dan 7 maanden behandeld is, die, welke 7-9,5 maanden behandeld is en die, welke 10 maanden en langer behandeld is.

In tabel 6, waarin alleen de gevallen zonder sputumresistentie voorkomen, zijn de gevallen ingedeeld naar hun aard bij opname in het sanatorium. Van de meeste caverneuze gevallen (d.w.z. met één of meer cavernes bij opname of tevoren, toen het proces ontdekt werd) was op het moment van de operatie de caverne niet meer als zodanig op de röntgenfoto en het planigram zichtbaar. Het blijkt dan, dat er tussen de caverneuze en kaashaarden-gevallen geen verschil bestond in het percentage gevallen met positieve cultuur uit het resectiepreparaat. Bij de caverneuze gevallen valt op, dat er in de eerste behandelingsmaanden vrij veel waren met positief resectiepreparaat, nadien echter niet meer. Bij de gevallen met alleen kaashaarden waren de positieve

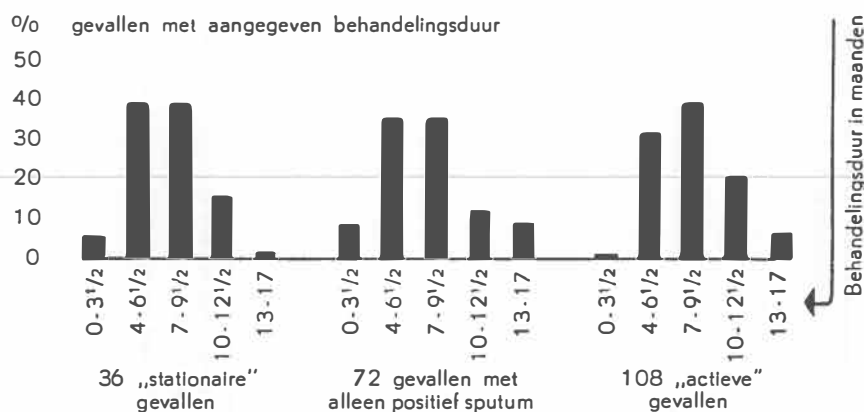
Aard der gevallen	Behandelingsduur in maanden											
	0—3½		4—6½		7—9½		10—12½		13—17		totaal	
	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.
caverneus	1	1	13	6 (= 45 %)	20	7 (= 35 %)	15	—	9	—	58	14 (= 24 %)
kaashaarden	9	5 (= 55 %)	62	20 (= 32 %)	66	10 (= 15 %)	18	2 (= 11 %)	6	1 (= 16 %)	161	38 (= 23 %)
andere	2	—	3	—	3	—	4	—	1	—	13	—
totaal	12	6 (= 50 %)	78	26 (= 33 %)	89	17 (= 19 %)	37	2 (= 5 %)	16	1 (= 6 %)	232	52 (= 22 %)

TABEL 6. KWEEKBAARHEID DER BACTERIËN UIT 232 PREPARATEN WAARBIJ IN HET PREOPERATIEVE SPUTUM GEEN RESISTENTE BACTERIËN WAREN GEVONDEN, IN VERBAND MET DE AARD DER GEVALLEN BIJ OPNAME

Viability of bacilli in 232 resected specimens of cases without resistant sputum bacilli, related to their having cavities, only caseous lesions, or other disease at the start of treatment

resectiepreparaten gelijkmatiger over de verschillende groepen verdeeld: een geringer aantal in de eerdere maanden, maar ook nog enkele bij een behandelingsduur van 10 maanden en langer. De andere gevallen — bijzondere gevolgtostanden van primaire tuberculose — hebben geen van alle een positieve kweek uit het resectiepreparaat opgeleverd.

In tabel 7 zijn alle gevallen opgenomen met resistentie of zonder resistentie van de bacteriën in het sputum, en wel of niet cavernes bevattende, waarbij het proces, voor zover uit het exsudatief- en pro-



Figuur 1. BEHANDELINGSDUUR VAN DE 3 IN TABEL 7 NAAR HUN KLINISCH BELOOP ONDSCHIEDEN GROEPEN PATIËNTEN

Duration of treatment of the 3 groups of cases, which were classified after their clinical course in table 7

ductief-kazige afwijkingen bestond, in het verloop van de behandeling goed te vervolgen was. Er zijn dus niet in opgenomen enkele gevallen, waar slechts één planigram werd gemaakt. Bij deze gevallen ging het alleen om de kweekbaarheid uit kaashaarden. De bedoeling was na te gaan in hoeverre de ouderdom van het proces, onafhankelijk van de behandelingsduur, invloed had gehad op de kweekbaarheid van de bacteriën. Verse, actieve processen ondergaan gewoonlijk een duide-

Klinisch beloop	Behandelingsduur in maanden										totaal	
	0—3½		4—6½		7—9½		10—12½		13 t/m 17			
	aant.*	pos. Cu.**	aant.	pos. Cu.	aant.	pos. Cu.	aant.	pos. Cu.	aant.	pos. Cu.	aant.	pos. Cu.
I Sputum steeds neg. rö.beeld stationair	2	—	14	3 (21 %)	14	1 (7 %)	6	1 (16 %)	1	—	36	5 (14 %)
II Sput. pos. geweest rö. beeld stationair	6	4 (66 %)	26	4 (15 %)	25	2 (8 %)	9	—	6	—	72	10 (14 %)
III Duidelijk veranderend rö.- beeld tijdens de kuur sput. pos. of neg. Hierbij:	1	1	35	18 (52 %)	43	11 (25 %)	22	1 (4 %)	7	1	108	32 (29 %)
pos. Cu. uit rö. stationaire haard				1				1				2
pos. Cu. uit rö. veranderde haard				11		8				1		20
pos. Cu. uit rö. niet te ver- volgen haard		1		6		3						10
	9	5 (55 %)	75	25 (33 %)	82	14 (17 %)	37	2 (5 %)	14	1 (7 %)	216	47 (22 %)

TABEL 7. DE KWECKBAARHEID DER BACTERIËN UIT KAASHAARDEN BIJ 216 GEVALLEN, WAARBIJ IN HET PREOPERATIEVE SPUTUM GEEN RESISTENTE BACTERIËN WAREN GEVONDEN EN WAARVAN RÖNTGENOLOGISCH HET VERLOOP GOED TE VOLGEN WAS

Viability of bacilli in caseous lesions of 216 cases without resistant sputum bacilli, in which röntgenologic changes during chemotherapy could be compared well

* aantal resectiepreparaten.

** aantal resectiepreparaten met een positieve kweek uit 1 of meer kaashaarden.

lijke verandering van het röntgenbeeld in de loop van enige maanden. Anderzijds is een zeker aantal patiënten geopereerd voor een waarschijnlijk al langer bestaand proces, waarvan de activiteit noch uit sputumpositiviteit noch uit een duidelijke verandering van het röntgenbeeld bleek, maar waar als indicatie tot resectie vooral gold het voorkomen van recidieven in de toekomst. Hoewel verse processen een aantal oudere elementen kunnen bevatten en planigrammen zeker niet nauwkeurig genoeg zijn om kleine veranderingen in hardgrootte altijd vast te stellen — waarbij activiteit ook zonder zulke veranderingen al aanwezig zou kunnen zijn — is toch gemeend, dat met de in tabel 7 gemaakte klinische onderscheiding een in grote trekken aanmerkelijke scheiding tussen de verse en oude haarden bevattende gevallen viel te maken. Hierbij zijn dus de gevallen met een stationair röntgenbeeld en negatief sputum als waarschijnlijk oud en inactief beschouwd en die met duidelijk veranderend röntgenbeeld als actief; hier tussen in staat dan een groep waarschijnlijk toch wel enigszins actieve gevallen, waar positief sputum aan het begin of tijdens het verloop voorkwam.

Er werden dan in de „niet-actieve” groep bij 5 van de 37 gevallen één of meer positieve kaashaarden gevonden, tegen 32 van de 108 gevallen met duidelijke activiteit. In de „niet actieve” groep is, zoals uit figuur 1 blijkt, relatief vroeger geopereerd dan in de „actieve” groep. Desondanks zijn de gevallen met positieve haardkweek gering in aantal en vrij gelijkmatig verdeeld over de ondergroepen met verschillende behandelingsduur.

In de „actieve” groep is het aantal gevallen met positieve haardkweek groter en valt voor een aanzienlijk groter deel bij de betrekkelijk kort (d.w.z. korter dan 10 maanden) behandelde gevallen. Ook bij deze groep met röntgenologisch constateerbare activiteit waren in 2 gevallen haarden positief, die röntgenologisch duidelijk te vervolgen waren geweest, daarbij stationair geleden hadden en dus misschien niet bij de laatste exacerbatie van het proces betrokken waren geweest. Daarnaast waren er 19 minder dan 10 maanden behandelde en wel duidelijk veranderde haarden positief, met daarnaast 1 lang behandelde. Het feit, dat in 10 gevallen niet goed te lokaliseren en te beoordelen haarden positief waren, maakt de kwantitatieve beoordeling in

sputumflora	Behandeling korter dan 9 maanden		Behandeling 9 t/m 16 maanden		Totaal	
	aant.	pos. Cu. uit strooihaardjes	aant.	pos. Cu. uit strooihaardjes	aant.	pos. Cu. uit strooihaardjes
Zonder aangetoonde bacterieresistentie in het sputum	22	10	21	0	43	10
Met resistente bacteriën in sputum	7	1	7	4	14	5
Totaal	29	11	28	4	57	15

TABEL 8. KWEEKBAARHEID VAN BACTERIËN UIT STROOIHAARDJES, ONDERZOCHT BIJ CAVERNEUZE PROCESSEN

Viability of bacilli in small noduli in cases with cavitary disease

deze groep onmogelijk. Het is echter wel duidelijk dat de kweekbaarheid uit kaashaarden uit actieve processen groter is dan uit processen, waarvan de klinische activiteit in de periode van de antibiotische behandeling niet duidelijk was, terwijl bij de actieve processen afname van de kweekbaarheid bij toenemende behandelingsduur bestaat, hetgeen bij waarschijnlijk niet-actieve processen niet het geval is.

De groep, waarbij alleen sputumpositiviteit op enig ogenblik tijdens de sanatoriumopname van activiteit van het proces getuigde, geeft ook in alle ondergroepen een geringe kweekbaarheid uit kaashaarden. Alleen bij de korter dan 4 maanden behandelenden, waarbij de sputumpositiviteit kort tevoren moet zijn waargenomen, gaven 4 van de 6 gevallen een positieve kaashaardkweek.

Hoewel ook bij processen zonder aantoonbare caveerne steeds strooiing kan voorkomen uit een vervloeiende haard, waarvan iets van de inhoud in een bronchus sijpelt, is de kans op strooiing als voorkomend gebeuren en ook kwantitatief groter bij aanwezigheid van cavernes. Daarom is nog bij de caverneuze gevallen, voor zover daarbij strooihaarden aanwezig waren en onderzocht werden en die dus even oud of jonger waren dan de caveerne, naar het verband tussen behandelingsduur en positiviteit uit strooihaarden gezocht. Ook hierbij bestond natuurlijk de kans op aanwezigheid van oudere haarden, die zich niet steeds door verkalking of verkrijting hebben hoeven doen kennen.

Uit tabel 8, waarin zijn samengebracht de gevallen, die met cavernes in het sanatorium werden opgenomen of die kort tevoren open cavernes gehad hadden en waarbij de kleinere, d.w.z. minder dan $\pm \frac{3}{4}$ cm metende, strooihaarden onderzocht zijn, bleek voor de gevallen zonder aangetoonde sputumresistentie korte behandelingsduur vrij vaak met kweekbare bacteriën samen te gaan en langere met een zeer geringe kweekbaarheid. Voor de gevallen met een resistente sputumflora gold die correlatie niet.

Wanneer men uit deze hele groep dan nog de meest verse caverneuze gevallen neemt, dan blijkt hierbij in tabel 9 dat de korter dan 9 maanden behandelenden allen een positieve kweek uit strooihaarden opleverden, van de langer behandelenden slechts 1 van 14.

Behandelingsduur korter dan 9 maanden		Behandelingsduur 9—16 maanden		Totaal	
aant.	pos. Cu. uit strooihaarden	aant.	pos. Cu. uit strooihaarden	aant.	pos. Cu. uit strooihaarden
5	5	14	1*	19	6

TABEL 9. KWEEKBAARHEID VAN BACTERIËN UIT STROOIHAARDJES IN 19 GEVALLEN, MET EEN RECENT CAVERNEUS PROCES ONDER BEHANDELING GEKOMEN

Viability of bacilli in small noduli in 19 cases with recent cavitory disease at the start of chemotherapy

* Hierbij bestond een lichte PAS-resistentie (0,3 γ); resectie na 10 maanden behandeling.

Steeds negatief	69
Tijdens de kuur positief	186 — in eerste maand 171
	in eerste 4 maanden 51
	in laatste 3 maanden 31
	in laatste 3 maanden alleen Z.N. + : 16
	in laatste 3 maanden kweek + : 15

TABEL 10. SPUTUMPOSITIVITEIT BIJ 255 RESECTIEPREPARATEN

Sputum positivity before 255 resections

Bij de meeste gevallen was het sputum alleen bij opname positief en werd negatief zodra de behandeling begon. Slechts 15 patiënten hadden in de laatste drie maanden voor operatie nog een positieve sputumkweek, met of zonder positief Z.N.-preparaat (tabel 10). De uitkomsten van de kweek uit de resectiepreparaten bij verdeling over het nog wel of niet meer recent positief zijn van het sputum en bij scheiding van de gevallen, waarbij tijdens de behandeling in het sputum resistente bacteriën waren aangetoond, van alle andere gevallen, zijn aangegeven in de tabellen 11 en 12. Hierbij is het sputum van de laatste 3 maanden genomen, omdat bij 1- of 2-maandelijks onderzoek een zwakke positiviteit niet bij elk onderzoek hoeft te blijken.

sputum in laatste 3 maanden positief		sputum in laatste 3 maanden negatief		totaal	
aant. 22	pos. res. prep. 5 (= 22 %)	aant. 210	pos. res. prep. 47 (= 22 %)	aant. 232	pos. res. prep. 52 (= 22 %)

TABEL 11. Kweekbaarheid van bacteriën in 232 gevallen met steeds negatief sputum of met bacteriën zonder aangetoonde resistentie

Viability of bacilli in 232 cases without resistant sputum bacilli related to positivity and negativity in the last 3 months before resection

Uit tabel 11 blijkt, dat onder de gevallen zonder aantoonbare resistentie van de sputumpopulatie er maar 22 waren, die kort voor operatie positief waren en het percentage met positieve kweken uit het resectiepreparaat was hierbij gelijk aan dat in de gehele groep.

sputum- resistentie tegen	sputum in laatste 3 maanden pos.		sputum in laatste 3 maanden neg.		totaal	
	aant.	pos. Cu. res. prep.	aant.	pos. Cu. res. prep.	aant.	pos. Cu. res. prep.
1 medic.	—	—	8	3	8	3
2 medic.	4	2	4	2	8	4
3 medic.	5	4	2	—	7	4
totaal	9	6 (66 %)	14	5 (35 %)	23	11 (47 %)

TABEL 12. Kweekbaarheid van bacteriën in gevallen met resistente sputum-flora

Viability of bacilli in cases with resistant sputum bacilli related to positivity and negativity in the last 3 months before resection

Wanneer sputumresistentie bestond, was, zoals uit tabel 12 blijkt, een groter aantal der gevallen kort voor operatie nog positief (9 van de 23 gevallen) en waren hierbij vaker bacteriën uit het resectiepreparaat te kweken dan bij de gevallen zonder sputumresistentie.

Bij onze gevallen was er geen duidelijk verschil in kweekbaarheid tussen de gevallen, die in de laatste 3 maanden nog positief sputum hadden, of niet meer:

tegen 35 % (11 van 31) der nog positieven had 23% (52 van 224) der niet meer positieven een positief resectiepreparaat. Ook was omgekeerd bij de 187 negatieve resectiepreparaten in 20 gevallen (= 11%)

Behand- lingsduur in maanden	Gevallen zonder resistente sputumflora					Gevallen met resistente sputumflora					Totaal		
	tot.	pos.Cu. sput.	met pos. Cu. res. prep.	pos. Z.N. sput.	met pos. Cu. res. prep.	tot.	pos.Cu. sput.	met pos. Cu. res. prep.	pos. Z.N. prep.	met pos. Cu. res. prep.	aant.	pos.Cu. sput.	pos. Z.N. sput.
0— 3½	1	1	1	—	—	1	1	—	—	—	2	2	—
4— 6½	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	2	—	2
7— 9½	9	2	—	7	3	2	2	2	—	—	11	4	7
10—12½	6	3	—	3	—	4	3	1	1	1	10	6	4
13 t/m 17	4	1	1	3	—	2	2	2	—	—	6	3	3
totaal	22	7	2	15	3	9	8	5	1	1	31	15	16

TABEL 13. KWEEKBARE BACTERIËN IN GEVALLEN WAAR DE LAATSTE 3 MAANDEN DE SPUTUMKWEEK OF ALLEEN HET Z.N.PREPARAAT POSITIEF WAS, BIJ GEVALLEN ZONDER EN MET RESISTENTE SPUTUMFLORA

Viability of bacilli in cases with positive culture or only positive stain of sputum bacilli in the last 3 months before operation. Cases with sensitive and with resistant sputum bacilli

het sputum in de laatste drie maanden nog positief geweest, tegen 11 (= 17%) van 63 gevallen met positief resectiepreparaat.

Een nadere analyse van de graad van sputumpositiviteit in de laatste 3 maanden, zoals die voorkwam bij de „niet resistente” en de „resistente” gevallen is in tabel 13 gemaakt, waar tevens de gevallen naar behandelingsduur zijn ingedeeld.

Terwijl van de 22 gevallen met gevoelige sputumflora 7 een positieve kweek en 15 alleen een positief Z.N.-preparaat hadden gehad, was deze verhouding voor de 9 gevallen met resistentie 8 tegen 1. De getallen zijn klein, maar het lijkt, dat positieve cultuur of positief Z.N. van het sputum weinig invloed had op de kweekbaarheid uit de resectiepreparaten (2 van 7 tegen 3 van 15) van gevallen met niet-resistent sputum, evenmin als sputumpositiviteit of -negativiteit in de laatste 3 maanden de kweekbaarheid uit de resectiepreparaten beïnvloedde. Echter ook afgezien van de frequentere kweekbaarheid van het sputum was er verschil tussen niet en wel resistente gevallen. De 9 gevallen met resistente bacterieflora in het sputum waren voortdurend of in elk geval herhaaldelijk positief geweest tijdens de kuur. Van de 22 niet-resistente gevallen met positief sputum kort voor de operatie, waren er 7 nog niet eerder in de kuur positief geweest, 6 waren tevoren alleen in de eerste opnamemaand en 9 herhaaldelijk positief geweest.

Behandelings- duur in maanden	Geen aangetoonde resistentie der sputumflora			Resistente sputumflora		
	tot.	sput. pos. in laatste 3 maanden		tot.	sput. pos. in laatste 3 maanden	
		aant.	pos. res. prep.		aant.	pos. res. prep.
0— 3½	12	1 (= 8 %)	1	2	1	—
4— 6½	78	2 (= 3 %)	—	3	—	—
7— 9½	89	9 (= 10 %)	3	6	2	2
10—12½	37	6 (= 15 %)	—	9	4	2
13—17	16	4 (= 25 %)	1	3	2	2
totaal	232	22 (= 9 %)	5	23	9 (= 39 %)	6

TABEL 14. HET VOORKOMEN VAN POSITIEF SPUTUM IN DE LAATSTE 3 MAANDEN PREOPERATIEF BIJ GEVALLEN MET VERSCHILLENDE BEHANDELINGSDUUR.

The occurrence of positive sputum in the last 3 months before operation related to duration of chemotherapy

Bij de niet-resistente gevallen lijkt het of met toenemende behandelingsduur het aantal gevallen met positief sputum in de laatste 3 maanden toenam. Dit komt, omdat enerzijds bij enkele gevallen bij wie herhaaldelijk het sputum positief was, maar die overigens niet zo geschikt voor operatie waren, tenslotte tot resectie besloten werd, maar in het grootste aantal (7 van de 10 meer dan 9 maanden behandelenden) vormde het positief zijn van het sputum — hetzij voor 't eerst in de kuur, hetzij na vele maanden sputumnegativiteit — juist een zeer belangrijke factor bij de indicatiestelling tot operatie. Terwijl al deze patiënten nog wel röntgenologisch zichtbare restafwijkingen hadden, was er slechts bij één naast het positief worden van het sputum een röntgenologische verslechtering, nl. in de vorm van een nieuw ontstane opheldering in een haard.

Wanneer tabel 14 met tabel 5 vergeleken wordt, dan blijkt bij de groep gevallen zonder aangetoonde sputumresistentie bij toenemende behandelingsduur een groter percentage der geopereerden nog positief sputum te hebben gehad, terwijl bij de langer behandelenden het percentage met positieve kweek uit de resectiepreparaten is afgenomen.

	aantal	pos. Cu. res. prep.
sputum negatief in laatste drie maanden	11	2 = 18 %
sputum positief	13	8 = 61 %
totaal	24	10 = 41 %

TABEL 15. Kweekbaarheid der bacteriën uit gevallen met preoperatief nog een CAVERNECONFIGURATIE

Viability of bacilli from cases with open cavity up till the moment of resection

In tabel 15 is te zien, dat in de 24 gevallen, die kort voor operatie nog röntgenologisch een caveneconfiguratie hadden, de kweekbaarheid van de bacteriën nog groot was in de gevallen met nog positief sputum, terwijl deze in de gevallen, waar het sputum negatief geworden was, niet frequenter was dan in de gehele serie (dit verschil is significant voor $p = 0,05$).

	Bacteriedichtheid in de bacterie-dichtste haard van het preparaat						gevallen met veel bact. Z.N. +4, +5	gevallen met weinig bact. +2, +1, 0	aant. gevallen met pos. Cu.	gemiddelde behandelingsduur van de groep in maanden
	Z.N. +5	Z.N. +4	Z.N. +3	Z.N. +2	Z.N. +1	neg.				
	aant. pos. Cu.	aant. pos. Cu.	aant. pos. Cu.	aant. pos. Cu.	aant. pos. Cu.	aant. pos. Cu.				
1e 50 gevallen	10 6	7 4	14 4	15 3	2	2	17 (= 34 % van 50)	19 (= 38 %)	17 (= 34 %)	6
2e 50 gevallen	2 2	9 2	17 6	18 8	3	1	11 (= 22 %)	22 (= 44 %)	18 (= 36 %)	8
3e 50 gevallen	5 2	8 2	15 6	20 2	1	1	13 (= 26 %)	22 (= 44 %)	12 (= 24 %)	8,2
4e 50 gevallen	1 1	3 1	15 2	21 2	7 2	3	4 (= 8 %)	31 (= 62 %)	7 (= 14 %)	7,7
laatste 45 gevallen	4 2	2 1	15 2	20 2	2 2	2	6 (= 13 %)	24 (= 53 %)	9 (= 18 %)	8,6
totaal 245 geopereerde patiënten	22 12 = 54 %	29 10 = 37 %	76 20 = 26 %	94 17 = 18 %	15 4 = 26 %	9 = 0 %	51 (= 20 %)	118 (= 47 %)	63	

TABEL 16. BACTERIEDICHTHEID, BACTERIEKWEKBAARHEID EN GEMIDDELDE BEHANDELINGSDUUR BIJ RANGSCHIKKING VAN DE GEVALLEN NAAR VOLGORDE VAN RESECTIE

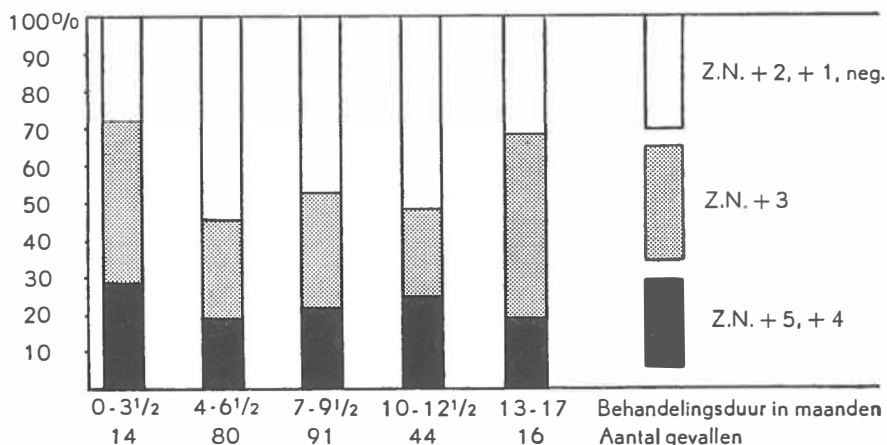
Bij beschouwing van de serie onderzochte resectiepreparaten viel het op, dat onder de eerder onderzochte gevallen het aantal met positieve kweek uit het resectiepreparaat groter was dan onder de later onderzochten. Wijzigden zich de ter operatie gekomen gevallen misschien ook in ander opzicht dan de kweekpositiviteit?

Uit tabel 6 is reeds gebleken, dat gemiddeld onder de niet-resistente caverneuze gevallen geen groter aantal met positieve resectiepreparaten voorkwam dan onder de kaashaardgevallen, zodat een veranderende verhouding tussen de aantallen hiervan geen invloed zou hebben. De gevallen met resistent sputum waren vrijwel gelijkmatig over de hele serie verdeeld.

De 245 patiënten zijn in tabel 16 gerangschikt naar de volgorde, waarin ze geopereerd zijn. Van de 10 dubbelzijdig geopereerde gevallen is het eerste resectiepreparaat ter beoordeling genomen. Bij de 51 gevallen met Z.N. + 5 + 4, was het preparaat kweekpositief in 22 = 43 %.

Bij de 118 gevallen met Z.N. +2, +1, 0, was het preparaat kweekpositief in 21 = 17 %.

Dit verschil is statistisch significant voor $p = 0,001$.



Figuur 2. BACTERIEDICHTHEID IN DE BACTERIEDICHTSTE HAARD VAN ELK RESECTIE-PREPARAAT BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGSDUUR

Highest number of stainable bacilli found in any lesion of a specimen related to duration of chemotherapy

Uit tabel 16 blijkt wel, dat in het verloop van de serie niet alleen het percentage aan kweek-positieve preparaten is gedaald, maar ook het percentage van gevallen waarin haarden of cavernes met grote bacteriedichtheid voorkwamen (onverschillig of hier nu juist de bacteriën uit gekweekt werden), terwijl er daarnaast meer gevallen kwamen met zeer weinig bacteriën in de haarden.

De gemiddelde behandelingsduur in de eerste groep was 6 maanden, varieerde in de 4 volgende groepen tussen 7,7 en 8,6 maanden en was dus in de laatste 2 groepen, waarin een geringer aantal kweek-positieve resectiepreparaten voorkwam, niet aanzienlijk hoger dan in de voorafgaande.

In deze laatste 2, dus niet extra lang behandelde, groepen ging de afname van de kweekpositiviteit gepaard met afname van het percentage gevallen met grote bacteriedichtheid; deze 2 groepen onderscheidden zich dus ook door die geringere bacteriedichtheid van de vorige. Overigens blijkt uit figuur 2, dat de frequentie van preparaten met grote bacteriedichtheid niet geringer was in de lang dan in de kort behandelde gevallen. Dat uit de gevallen met grote bacteriedichtheid vaker bacteriën gekweekt werden dan uit die met weinig bacteriën, lag dus niet aan een misschien kortere behandeling van de bacteriedichte, maar aan een eigenaardigheid van deze gevallen onafhankelijk van de behandelingsduur. Bij deze 51 gevallen met grote bacteriedichtheid was slechts 8 keer een open caverne zetel van de talrijke bacteriën (zie tabel 29).

In de litteratuur werden weinig onderzoeken gevonden, waarin melding gemaakt wordt van het aantal bacteriën, dat in uitstrijkpreparaten te zien was. WAYNE e.a. (1956) namen waar, dat in cavernes, wanneer deze zich sloten, het aantal kleur- en kweekbare bacteriën in dezelfde verhouding afnam, zodat in langgesloten cavernes het aantal voor beide slechts zeer gering was. In gevallen met gesloten laesies, waaruit zij geen bacteriën konden kweken, zagen zij echter na meer dan 9 maanden behandeling en evenlange sputum-negativiteit gemiddeld nogeven veel bacteriën als bij kort behandelde, een bevinding die vergelijkbaar is met onze in figuur 2 weergegeven uitkomsten. Ook onze gevallen immers bevatten voor een groot deel gesloten laesies zonder kweekbare bacteriën. Het ziet er dus naar

uit, dat in dergelijke gevallen het aantal kleurbare bacteriën geruime tijd ongeveer gelijk kan blijven.

Alvorens uitkomsten van in het buitenland verrichte bacteriologische onderzoeken aan resectiepreparaten te vermelden, lijkt het gewenst tevoren enkele factoren te noemen, die de aard der gevallen en de behandelingswijze in Nederland meer of minder doet afwijken van de elders gebruikelijke.

In de eerste plaats maakt het uitgebreide opsporingssysteem, zoals dat in Nederland bestaat in de vorm van bevolkingsonderzoek, doorlichting van bedrijfs- en onderwyzend personeel en contact-onderzoek in de omgeving van tuberculoselijders, dat betrekkelijk veel beginnende en niet zeer uitgebreide gevallen onder behandeling komen. Daarbij komt de bedrustkuur, zoals die in de sanatoria toch nog steeds in zwang is, met de regelmatig, zonder onderbreking doorgevoerde kuur met combinaties van geneesmiddelen, die verschilt van de behandeling zoals veel patiënten elders kregen, tenminste in de jaren 1950—1956, waaruit de meeste publicaties dateren. Tenslotte zijn in ons sanatorium ongetwijfeld een aantal patiënten geopereerd, die men elders alleen medicamenteus zou hebben behandeld, omdat ze reeds negatief waren geworden, geen open cavernes meer hadden of een open cavernegenezing waarschijnlijk geacht werd, of omdat de uitgebreidheid van hun proces zo gering was, dat men bij hen als “minimal cases” een resectie niet geïndiceerd zou hebben gevonden. Bij onze indicatiestelling heeft de gedachte zich vaak doen gelden dat met een resectie allicht recidief kon worden voorkomen, vooral bij patiënten, die reeds eerder hadden gekuurd, maar ook bij anderen, wier aard of beroep het gewenst maakte een recidiefkans zo gering mogelijk te maken. Daarbij werd in het algemeen pas tot resectie besloten, wanneer het proces zijn activiteit klinisch zoveel mogelijk leek te hebben verloren. Het besluit tot resectie zou misschien, nu de gunstige resultaten van lang (d.w.z. minstens een jaar) voortgezette medicamenteuze behandeling bij veel gevallen bekend worden, niet genomen zijn bij een aantal patiënten, waarbij ons dit in de jaren 1954 t/m 1957 wel geïndiceerd leek. (MULDER 1960).

Frequentie van kweekpositieve gevallen.

MEISSNER (1956a) deelt mee, dat uit slechts 14 van 202 onderzochte preparaten geen bacteriën konden worden gekweekt. In haar serie waren echter nog 145 cavernes aanwezig, die voor 94 % positieve kweken leverden, evenals 70 % der onderzochte kaashaarden. Maar deze patiënten waren voor bijna de helft hoogstens 4 maanden behandeld, zoals die van SCHMIDT (1959) wiens resectiepreparaten door MEISSNER onderzocht werden en van wiens gevallen met tuberculomen 107 van de 130 positief sputum hadden en ongeveer drie maanden medicamenteus behandeld werden. Velen kregen onderbroken kuren met apart gegeven medicamenten. Van het preoperatieve sputum meldt MEISSNER niets, misschien echter mag als min of meer representatief voor haar materiaal, dat uit enkele sanatoria in West-Duitsland komt, het gegeven van VOSSCHULTE e.a. (1958) gelden. Deze vonden bij 131 in 1956 in hun kliniek geopereerde patiënten vlak voor operatie bij 41 % bacteriën kweekbaar, bij 25 % een positief Z.N.-preparaat en slechts in 33 % negatief sputum. In de meeste gekweekte sputumpopulaties bestond resistentie tegen Sm en/of INH. Zo vonden JOHNSON e.a. (1956) in 62 % van 60 gevallen kweekbare bacteriën: vele hiervan hadden preoperatief nog cavernes en positief sputum. Ook BERNARD e.a. (1954) kweekten

Auteur	aantal gevallen	aantal kweek positief	%	Bijzonderheden
HEATON 1959	113	5	4 %	alle preoperatief neg.
STEWART 1956	56	18	32 %	alle preoperatief neg., geen resistente sputumflora's.
FALK 1954	250	70	28 %	vrij lang behandeld.
ADLER 1955	94	15	16 %	preoperatief nog 9 × pos. sput.
D'ESOPO 1953	142	27	19 %	„target point” gevallen.
BELL 1956	147	59	40 %	alle nog caverneus, maar met neg. sput.
WAYNE 1956	105	33	31 %	laatste 2 maanden neg. sput.
EADE 1959	59	6	10 %	resttoestanden.
COTTER 1958	240	27	12 %	preoperatief nog 6 × pos. sput.
D'ESOPO 1956	1025	237	23 %	laatste 2 maanden neg. Eerste behandelingen.

TABEL A.

uit 36 van 37 gevallen, alle nog met positief sputum preoperatief, tuberkelbacteriën. CANETTI (1958b) kon uit 52 % van 178 gevallen, vele met cavernes en resistente sputumflora, bacteriën kweken. Daartegenover staan uitkomsten, verkregen bij reeksen gevallen, die in een klinisch min of meer inactief stadium werden geopereerd. Hiervan geeft tabel A er enkele.

Een nauwkeurige vergelijking van de verschillende series is niet mogelijk, omdat bijna ieder een eigen begrenzing geeft aan wat hij heeft willen beschouwen als min of meer gestabiliseerd geval. De hier gegeven uitkomsten, welke nog te vermeerderen zouden zijn met ettelijke van andere auteurs, liggen echter ongeveer in dezelfde orde van grootte.

Klinisch was het merendeel van onze onderzochte reeks gevallen reeds in een tamelijk inactief stadium gekomen bij operatie. Het blijkt dat de kweekresultaten uit onze resectiepreparaten passen bij de in tabel A opgesomde serie van min of meer gestabiliseerde gevallen.

Uit tabel 5 bleek, dat er een statistisch significante daling was in het percentage kweekpositieve gevallen met toenemende behandelingsduur, vooral wanneer de gevallen met resistente bacterieflora apart gehouden werden, omdat het effect van de toegediende antibiotica op de kweekbaarheid daarbij waarschijnlijk geringer was. Een aantal auteurs, zoals d'ESOPO (1956), wanneer hij de verzamelde gegevens van de Vet. Adm. Hosp. bespreekt, en zoals STEWART (1956), ADLER (1955), COTTER (1958), KAUFMAN (1953) menen ook een invloed van de behandelingsduur te zien, ook al vinden enkelen van hen, net als wij, dat ook bij langer dan een jaar voortgezette behandeling kweekbaarheid uit een laesie in een enkel geval nog kan voorkomen. Anderen nemen dit verschijnsel niet waar. FALK (1954) acht de uitgebreidheid van het longproces van veel groter belang, CANETTI (1954) ziet ook geen invloed. Eensdeels is een groot deel van zijn gevallen maar enkele maanden behandeld, zodat de invloed van de therapieduur ook nog niet aanzienlijk kon zijn, anderzijds kweekt hij vaak resistente populaties uit de resectiepreparaten en het is de vraag of van verlenging van de therapie (tenzij met andere

krachtige middelen of een aanzienlijk hogere dosering) dan wel invloed verwacht kan worden. Ook MEISSNER (1956a, 1959), die ook bij een meer dan 6 maanden durende behandeling nog veel positieve kweken uit de longafwijkingen krijgt, vindt in haar gevallen in de grote meerderheid INH-resistente populaties. Daarbij herinnert CANETTI (1959b) eraan, dat de behandeling op vele oudere verkaasde afwijkingen nauwelijks invloed kan hebben, omdat ook bij vroegere onderzoeken uit haarden, die niet behandeld waren, geen bacteriën te kweken vielen en omdat de er in voorkomende bacteriën meestal in een toestand van geringe stofwisseling en groei verkeren, waardoor ze niet beïnvloed worden door antibiotica. Invloed zou slechts verwacht kunnen worden op de zich in snelle vermeerdering bevindende bacteriën in cavernes en daarnaast in exsudatieve, in verkazing overgaande processen en in verwekende kaashaarden, voor zover die verweking met bacterievermeerdering gepaard gaat. Wij hebben daarom, voor zover dat klinisch mogelijk scheen, een onderscheid trachten te maken tussen longprocessen met kazige afwijkingen, die waarschijnlijk vers en actief waren en die welke wel grotendeels in een inactief stadium leken te verkeren, wat betreft hun niet-caverneuze bestanddelen. Uit tabel 7 blijkt dan, dat de groep met de niet-actief lijkende gevallen, een geringer en over de behandelingsduur gelijkmatiger verspreid aantal kweekpositieve gevallen opleverde dan de groep met de duidelijk actieve gevallen en dat in deze laatste groep een zeer duidelijke daling van de kweekbaarheid uit de kaashaarden van deze gevallen optrad bij toenemende behandelingsduur. In tabel 8 en 9 is voor de in meerderheid wel verse strooihaardjes van caverneuze processen de relatie van kweekbaarheid en behandelingsduur ook nog eens gegeven en deze blijkt voor de gevallen zonder resistent gebleken bacteriepopulaties in het sputum toch wel duidelijk aanwezig.

De opvatting van CANETTI over de geringe therapeutische beïnvloedbaarheid van oudere kaashaarden wordt wel gesteund door onze bevinding, dat bij de aan het begin van de behandeling reeds inactief lijkende gevallen de kweekbaarheid van de bacteriën gering is en gelijkmatig voorkomt bij verschillende behandelingsduur. Wanneer in tabel 6, waar de gevallen werden uitgesloten met een

resistente bacteriepopulatie in het sputum, de gevallen die aan het begin van de behandeling caverneus waren, gesteld worden tegenover de gevallen, waarin geen cavernes zijn waargenomen tijdens de laatste ziekteperiode, blijkt, dat de caverneuze gevallen in totaal niet vaker positieve kweken opleveren dan de kaashaardgevallen, maar dat de positieve kweken vallen bij hen, die kort behandeld zijn. Bij de gevallen met alleen kaashaarden wordt onder de kort behandelenden ook het vaakst een positief resectiepreparaat gevonden, maar ook bij de lang behandelenden blijven hier enkele positieven.

27 % van onze gevallen heeft tijdens de opname in het sanatorium in 't geheel geen positief sputum gehad, 171 (= 67 %) werden direct na de eerste maand, dus zodra de antibiotische behandeling begon, negatief, 51 bleven de eerste paar maanden nog positief, slechts 31 waren in de laatste 3 maanden voor de operatie nog positief.

Voor al bij de beoordeling van het voorkomen van positieve resectiepreparaten bij wel of niet preoperatief positief sputum leek het ons gewenst onderscheid te maken tussen resistente of gevoelige sputumflora. Het blijkt dan uit tabel 11, dat bij de groep, die geen resistente flora had, de kans op een positief resectiepreparaat niet groter was, wanneer het sputum in de laatste 3 maanden nog positief was geweest. Zoals uit tabel 13 blijkt, hadden in deze groep 15 van de 22 gevallen een positief uitstrijkje maar geen positieve sputumkweek. Maar ook van hen, die wel een positieve sputumkweek hadden kort voor operatie, was slechts in 2 van de 7 gevallen het resectiepreparaat kweekpositief. Dit kan verschillende oorzaken hebben: in een paar gevallen dateerde de positieve kweek van bijna 3 maanden geleden en kan ondertussen bij de verdere behandeling de toestand in de desbetreffende haard veranderd zijn. Het kan ook zijn, dat de voor de sputumkweek verantwoordelijke laesie, hetzij een kaashaardje dat wat van zijn inhoud losliet, hetzij een bronchitis in een klein takje, niet voor onderzoek genomen is. Tenslotte kan de positieve kweek ook afkomstig zijn geweest uit een afwijking, gelegen buiten het gereseceerde longdeel, hetzij in dezelfde, hetzij in de andere long. Het voorkomen in het sputum van niet-kweekbare, maar wel in

het uitstrijkje aanwezige tuberkelbacteriën, was in onze serie vrij frequent (16 van de 31 preoperatief positieve gevallen), en wordt bij patiënten die onder antibiotische behandeling zijn nogal eens gezien door o.a. WIER (1955) en MEISSNER (1956b), welke laatste het vooral bij INH-toediening waarneemt, zowel bij voor INH gevoelige als resistente bacteriën. Het voorkomen ervan hangt, behalve van de mate van beschadiging van de bacteriën zelf, vooral af van de nauwkeurigheid van het Z.N.-onderzoek en van de gevoeligheid van de kweekmethode. MIDDLEBROOK (1957) meende vrijwel alle kleurbare bacteriën uit sputum ook te kunnen kweken op zijn voedingsbodems. De groeiremming en beschadiging van de bacteriën in het sputum door de antibiotica kan ook een rol spelen bij de bacteriën die in de geresecteerde longhaarden worden gevonden, ze is daar echter niet de enige oorzaak van de onkweekbaarheid, die immers ook bij bacteriën uit onbehandelde haarden voorkomt. (SWEANY 1943, KATZ 1953, BECK 1952). Op zijn speciale bodems kon MIDDLEBROOK deze bacteriën uit de kaashaarden niet kweken. De vondst van onkweekbare sputumbacteriën ging in onze serie vaak met onkweekbaarheid in het resectiepreparaat gepaard.

Uit tabel 12 blijkt, dat, wanneer resistentie tegen 2 of 3 middelen van de groep Sm, PAS of INH was ontstaan, operatie vaker werd uitgevoerd terwijl het sputum nog positief was en dat dan het aantal preparaten met kweekbare bacteriën ook groter was. Het aantal gevallen met resistente sputumflora en dus ook met preoperatief positief sputum met resistente bacteriën is in onze serie klein, nl. 23 op de 255 resectiepreparaten en slechts 9 van de 31 die preoperatief nog positief waren.

Andere onderzoekers vinden in hun series bij de preoperatief nog positieven vaker positieve resectiepreparaten. Zo kwamen in de reeds genoemde series van MEISSNER (1956a), JOHNSON (1956) en BERNARD (1954), waarbij velen bij operatie nog positief waren en met resistentie in het sputum, vele met positieve preparaatkweken voor. In 107 gevallen met preoperatief positief sputum (bijna alle met resistente flora) van HEATON (1959), had 91 % een positief resectiepreparaat. Evenzo konden bij 65 % van 280 voor het eerst behandelde gevallen, die preoperatief nog positief waren, bacteriën

uit het resectiepreparaat gekweekt worden in de verzamelserie van de Veterans Administration Hospitals, die d'Esopo (1956) beschrijft. Omgekeerd was in die serie bij 952 preparaten, waaruit geen bacteriën gekweekt werden, in 9 % het sputum preoperatief positief geweest, tegen 36 % van 335 met positieve preparatkweek. Deze gevallen komen ongeveer overeen met onze uitkomsten, waar 11 % van de kweeknegatieve, en 17 % van de kweekpositieve gevallen preoperatief positief sputum hadden gehad.

Sommige onderzoekers hebben bij hun materiaal gevonden, dat bij een lange preoperatieve periode van sputumnegativiteit de kweekbaarheid uit de preparaten geringer is dan bij een kortere negativiteitsduur. (KAUFMANN 1954, STEWART 1956, WAYNE 1956). Bij onze gevallen, die zo vaak bij de aanvang van de antibiotische behandeling negatief werden, leek de negativiteitsduur zozeer met de behandelingsduur samen te hangen, dat een afzonderlijke beschouwing ervan weinig zin leek te hebben. Ook d'Esopo (1956) komt tot die conclusie.

Cavernes.

Terwijl in verse caverneuze longprocessen de cavernes de voornaamste bronnen van positief sputum zijn, wordt in de meeste van deze gevallen tegenwoordig onder streng doorgevoerde therapie met combinaties van geneesmiddelen het sputum al in de eerste maanden negatief zonder dat resistentie tegen de gegeven antibiotica wordt vastgesteld. Het sputum is vaak al enige tijd negatief voordat röntgenologisch de caverneconfiguratie verdwijnt en omdat ondertussen een eventueel aanwezige strooiing van exsudatieve hardjes ook grotendeels geresorbeerd wordt, waarbij kleine goed afgegrensde hardjes kunnen overblijven, werd in dit stadium met nog open caverne vaak tot resectie besloten. Ook wanneer de caverne was volgelopen of in een klein litteken was veranderd, werd vaak resectie geïndiceerd geacht, vooral als ook nog resten van de strooiing of van een ouder proces vrij uitgebreid waren. Daarnaast waren er gevallen, die reeds bij opname een resistente bacterieflora uitscheidten en enige tijd zo goed mogelijk, deels met antibiotica van het tweede plan, behandeld werden, of die, voor 't eerst onder behandeling, bij open caverne posi-

tief sputum hielden en daarbij resistent werden. Zo waren er vooral onder de eerdere gevallen in onze serie enkele, die met nog niet zo rigoureuze gecombineerde behandeling waren aangepakt.

Uit tabel 6 blijkt, dat de gevallen die met caverneuze afwijkingen werden opgenomen, voor zover ze tijdens de kuur geen resistente sputumflora hadden of ontwikkelden, niet meer kweekpositieve resectiepreparaten leverden dan de andere gevallen. In tabel 15, waar alle gevallen zijn samengevoegd, die op het tijdstip van operatie nog op het planigram een caverneconfiguratie hadden, blijkt, dat dit bij de gevallen met dan nog positief sputum tot een percentage van 61 % aan positieve resectiepreparaten leidde, terwijl de patiënten met al minstens 3 maanden negatief sputum, slechts in 18 % een positieve kweek uit het resectiepreparaat hadden.

BELL (1956) vond bij 147 gevallen, die voor operatie nog open cavernes bij reeds enige maanden negatief sputum hadden, in 40 % positieve kweken in de resectiepreparaten; in de verzamelde gevallen van de Vet. Adm. Hosp. waren dit er 36 % van 236 gevallen, tegen 73 % van 178 nog cavernes bevattende gevallen met preoperatief nog positief sputum.

Resumé.

a) Auteurs met series kort en onregelmatig behandelde gevallen met veel sputumpositiviteit en resistente bacteriën vinden een hoog percentage positieve resectiepreparaten. Onze uitkomsten, in het algemeen afkomstig van patiënten, die in een min of meer inactief stadium geopereerd werden, komen overeen met die van andere dergelijke series.

b) De lengte der behandelingsduur met antibiotica had in onze serie invloed op de positiviteit der gevallen zonder preoperatieve resistentie der bacteriën in het sputum. Deze waarneming wordt door enkele onderzoekers ook gedaan, door anderen niet. In onze serie blijkt deze invloed speciaal aanwezig bij gevallen, die bij de aanvang der behandeling een actief proces hadden en wordt vooral duidelijk als de behandeling langer dan 9 maanden werd voortgezet.

c) Preoperatieve sputumpositiviteit had bij de gevallen zonder resistente sputumflora geen invloed op de positiviteit van onze serie

Haardgrootte	Behandelingsduur in maanden											
	0—3½ mnd		4—6½ mnd		7—9½ mnd		10—12½ mnd		13 t/m 17 mnd		totaal	
	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.
meer dan 1 cm	12	4	49	5	48	1	20	—	13	1	142	12 (8,4 %)
0,5—1 cm	10	1	76	13	93	5	31	1	13	—	223	20 (9 %)
kleiner dan 0,5 cm	8	1	102	19	136	13	66	—	30	—	342	33 (9 %)
totaal	30	6 (20%)	227	37 (16%)	277	19 (6%)	117	1 (1%)	56	1 (2%)	707	64 (9 %)

TABEL 17. KWEEKPOSITIVITEIT VAN KAASHAARDEN IN VERBAND MET GROOTTE EN BEHANDELINGSDUUR. GEVALLEN WAARBIJ GEEN RESISTENTIE IN DE SPUTUMFLORA WAS AANGETOOND

Viability of bacilli in caseous lesions of various size related to duration of chemotherapy. Cases without resistant sputum bacilli

resectiepreparaten. De preoperatieve sputumflora was vaak niet kweekbaar. Bij resistentie tegen 2 of 3 medicijnen bleef het sputum meestal wel kweekbaar en was het ook vaker preoperatief positief, terwijl dit vaker gepaard ging met positief resectiepreparaat. Ook andere onderzoekers, waarvan velen een groter percentage gevallen met resistente sputumflora hebben, vinden bij preoperatief positief sputum een veel groter aantal positieve resectiepreparaten.

d) Uit röntgenologisch nog open cavernes werden door ons, wanneer het sputum reeds enkele maanden negatief was, in slechts weinig resectiepreparaten bacteriën gekweekt. Bij nog positief sputum kwamen vaker kweekbare bacteriën in de gereseceerde cavernes voor.

§ 2. DE KAASHAARDEN.

De kweekuitkomsten van 707 onderzochte kaashaarden, afkomstig van patiënten bij wie voor operatie geen resistentie van de bacteriën tegen 1 of meer van de gebruikte chemotherapeutica was geconstateerd, zijn samengevat in tabel 17 en 18.

Consistentie	Aantal	Kweek positief		Z.N.-positief	
		aantal	%	aantal	%
Krijtig	117	2	2 %	104	80 %
Hard-taai	142	12	8 %	128	90 %
Week-elastisch	158	20	13 %	146	92 %
Week	182	14	8 %	163	90 %
Vervloeid	32	2	6 %	23	72 %
Gemengd	76	14	18 %	75	99 %
Totaal	707	64	9 %	639	90 %

TABEL 18. KREEKBAARHEID EN KLEURBAARHEID DER BACTERIËN IN KAASHAARDEN VAN VERSCHILLENDE CONSISTENTIE

GEVALLEN, WAARBIJ GEEN RESISTENTIE IN DE SPUTUMFLORA WAS AANGETOOND

Viability and number of stainable bacilli in cases of various consistency

Cases without resistant sputum bacilli

Uit tabel 17 blijkt, dat bij toenemende behandelingsduur het percentage haarden met positieve kweek afnam, vooral wanneer de behandeling met chemotherapeutica langer dan 6 maanden had geduurd.

Consistentie	Behandelingsduur in maanden							totaal		
	0—6½				7—18					
	aant.	% van totaal	pos.	%	aant.	pos.	%	aant.	pos.	%
Krijtig	31	31/117 = 26 %	1	3 %	86	1	1 %	117	2	2 %
hard-taai	51	51/142 = 36 %	8	15 %	91	4	4 %	142	12	8 %
week-elastisch	47	47/158 = 29 %	12	25 %	111	8	7 %	158	20	13 %
week	78	78/182 = 42 %	12	14 %	104	2	2 %	182	14	8 %
vervloeid	15	15/32 = 47 %	1	6 %	17	1	6 %	32	2	6 %
gemengd	35	35/76 = 46 %	9	25 %	41	5	12 %	76	14	18 %
totaal	257	257/707 = 36 %	43	17 %	450	21	5 %	707	64	9 %

TABEL 19. INVLOED VAN DE CONSISTENTIE OP DE KWEEKPOSITIVITEIT VAN KAASHAARDEN BIJ KORTE EN LANGE BEHANDELINGSDUUR. GEVALLEN WAARBIJ GEEN RESISTENTIE IN DE SPUTUMFLORA WAS AANGETOOND

Viability of bacilli in caseous lesions of various consistency related to duration of treatment

Dit verschil is significant voor $p = 0,001$. Tussen de haarden van diverse grootte was vrijwel geen verschil in de frequentie van kweekpositiviteit. Uit tabel 18 blijkt, dat er verschil is in de frequentie, waarmee bij haarden van verschillende consistentie een positieve kweek verkregen werd: in de groep krijtige haarden was dit aantal geringer, in de week-elastische wat hoger, maar vooral in de groep gemengde haarden lag dit aantal boven het gemiddelde.

Uit tabel 19 blijkt echter, dat deze verschillen gedeeltelijk veroorzaakt werden door het feit, dat sommige soorten haarden gemiddeld vroeger geopereerd werden, zodat naast de soort haard ook de korte behandelingsduur van invloed kon zijn op het veroorzaken van een vrij hoog percentage kweekpositieven in die groepen.

Uit tabel 19 blijkt verder, dat voor de krijtige haarden de behandelingsduur geen invloed op de kweekbaarheid leek uit te oefenen; ook bij de vervloeide haarden bleek hiervan niet. Deze laatste groep was echter klein en naar in hoofdstuk III uiteengezet werd, waarschijnlijk heterogeen van samenstelling.

Bij de hard-taaie, week-elastische, weke en gemengde haarden was er een duidelijke afname in kweekpositiviteit der haarden bij langere behandelingsduur. Deze was voor de gemengde haarden het minst duidelijk, wat veroorzaakt werd door een nog groot aantal kweekpositieve haarden (4 op 33) in de behandelingsperiode van 7-9½ maand. Ook wanneer dus in aanmerking genomen wordt, dat ze gemiddeld korter behandeld werden, was bij de gemengde haarden het percentage kweekpositieve haarden iets hoger dan in de andere groepen. Dit verschil was statistisch niet significant.

Het is degenen, die tuberkelbacteriën uit verkaasde haarden trachtten te kweken, opgevallen hoe vaak dit mislukte, ook bij de gevallen waar de bacteriën wel kleurbaar waren. In tabel B worden de uitkomsten van enkele onderzoekers vermeld.

Door de meeste auteurs worden onder de gesloten laesies ook volgelopen cavernes gerekend; in onze serie, die, zoals uit tabel 17 bleek, in 9,5 % van 754 kaashaarden een positieve kweek opleverde, zijn de volgelopen cavernes, voor zover ze als zodanig bekend waren, niet bij deze groep gerekend. Er is een zeer duidelijk verschil tussen de

Auteur	aantal kaas- haarden	aantal kweek- positief	%	Bijzonderheden
MEISSNER 1956a	644	476	74 %	Korte, onregelmatige behande- ling.
BERNARD 1954	46	28	61 %	Ernstige gevallen, onregelmatig behandeld.
HEATON 1959	{ 28	21	75 %	Pos., resistent sput.
	66	0	0 %	Neg. sput., lang behandeld.
STEWART 1956	141	11	8 %	Lange behandeling, neg. sput.
CANETTI 1954	126	47	37 %	Vaak resistentie, korte behande- ling.
HALL 1953	94	11	12 %	Min of meer „target point” ge- vallen.
MEDLAR 1955	356	20	5 %	
JOHNSON 1956	178	50	28 %	Veel resistente gevallen.
D'ESOP 1953	296	19	6 %	„Target point” gevallen.
FALK 1954	171	28	16 %	
ADLER 1955	119	14	11 %	
RALEIGH 1955	168	39	23 %	
HURFORD 1957	82	26	32 %	Al > ½ jaar neg. sput.

TABEL B.

gevallen van MEISSNER, BERNARD en HEATON, die in de meeste gevallen een sterk resistente sputumflora hadden en de andere series, die gevallen behelzen die bij operatie voor een groot deel in een min of meer gestabiliseerde toestand verkeerden.

In onze serie had de hardgrootte geen invloed op de kweekbaarheid van de bacteriën. Ook STEWART, HALL en MEISSNER zagen geen aanmerkelijk verschil bij verschillende hardgrootte. CANETTI (1954) vond bij haarden groter dan 1,5 cm vaker kweekbare bacteriën dan bij kleine strooihaardjes.

De invloed van de behandelingsduur was, evenals bij de gevallen in hun geheel beschouwd, pas duidelijk bij langer dan een half jaar voortgezette medicamenteuze kuur. Ook STEWART (1956) zag dergelijke invloed; bij de door CANETTI (1954) onderzochte haarden was deze invloed niet duidelijk, ook niet, wanneer hij die van patiënten met een resistente bacterieflora uitschakelde. Wel vond hij een duidelijk verschil bij verschil in hardconsistentie: tegen 11 % van krijtige haarden, kweekte hij bacteriën uit 27 % van taaie, afgekapselde, uit 40 % van elastische kaashaarden, uit 70 % van ver-

vloeide haarden en uit 88 % van verse, niet afgekapselde haarden. Ook STEWART kweekte iets vaker uit weke dan uit stevige laesies. MEISSNER (1956a), die gemiddeld uit 74 % van de kaashaarden bacteriën kweekte, deed dit uit 65 % van de krijtige haarden. Deze bevindingen zijn min of meer overeenkomend met de onze (tabel 18 en 19). Het aantal gevallen, waarbij bacteriën in kaashaarden kleurbaar waren, was bij de auteurs, die dit noemden, ongeveer gelijk. Het varieerde van 66 tot 72 % bij HALL (1953), STEELE (1953), MEDLAR (1955) en d'ESOP (1953) en bedroeg in onze serie 90 %. Het was bij deze min of meer inactief geworden gevallen niet lager dan bij na korte behandeling in actief stadium geopereerde gevallen (CANETTI).

Resumerend kan van onze eigen uitkomsten gezegd worden:

- a) Het geringe aantal kaashaarden met positieve kweek bij groot percentage met kleurbare bacteriën uit onze serie was in overeenstemming met de bevindingen van andere onderzoekers.
- b) De haardgrootte had geen invloed op de kweekpositiviteit.
- c) De consistentie van de in de haard aanwezige kaas had een zekere, geringe, invloed op de kweekbaarheid.
- d) De behandelingsduur had een statistisch significante invloed op de kweekbaarheid van de bacteriën in onze serie.

§ 3. DE GEMENGDE HAARDEN.

Klinisch bestond een zekere neiging om haarden, die röntgenologisch tijdens de kuur een kleine opheldering vertoonden, als waarschijnlijk actief te beschouwen en weinig toegankelijk voor genezing door behandeling met bedrust en chemotherapeutica. Daarom werd hierbij vaak de indicatie tot resectie gesteld, vooral als ze vrij groot waren en niet vergezeld gingen van andere afwijkingen of hoogstens waren omgeven door enkele kleine hardjes. Daarnaast werden in de resectiepreparaten de in hoofdstuk III beschreven gemengde haarden aangetroffen, die in een wat groter percentage kweekbare bacteriën opleverden dan andere kaashaarden. Om te zien in hoeverre deze klinisch waargenomen en de in de resectiepreparaten gevonden groep haarden dezelfde waren, zijn die haarden uit beide groepen vergeleken, welke röntgenologisch en in het preparaat goed te

identificeren waren. Haarden, kleiner dan ongeveer 8 mm, werden daarom in het volgende overzicht niet opgenomen.

Anatomisch beeld	aantal	pos. Cu.
Gemengd deels vervloeid	16	3
deels weker	5	1
Duidelijke bindweefselkapsel met geheel weke of vervloeide inhoud	6	2
Haarden met gelijkmatige kaas	3	0

TABEL 20. ANATOMISCH BEELD, BEHORENDE BIJ 30 HAARDEN, DIE RÖNTGENOLOGISCH TIJDENS DE KUUR TIJDELIJK OF VOORTDUREND EEN KLEINE OPHELDERING HADDEN VER-TOOND

Anatomy of 30 lesions, which on planigrams had shown a small clarification during treatment

De haarden met bindweefselkapsel en geheel weke of vervloeide inhoud leken meer op volgelopen cavernes. Juist bij deze 6 gevallen was de aan het begin van de observatieperiode waargenomen op- heldering relatief groot geweest, zodat ze grensgevallen tussen de groep „haard met opheldering” en caverne leken te zijn. Bij 2 van deze 6 was het beeld vlak voor operatie dat van een dunwandig klein ringschaduwte, waarbinnen opheldering; dit bleek een niet met lucht maar met helder vocht gevuld dikwandig holtetje te zijn.

Anatomisch aspect	Röntg. kleine of vrij kleine opheldering		Ongelijkma- tige schaduw		Gelijk- matige schaduw		To- taal	pos.
	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.		
Gedeeltelijk ver- vloeid	16	3	12	3	1	—	29	6
Gedeeltelijk ver- weekt	5	1	7	1	2	1	14	3
Totaal	21	4	19	4	3	1	43	9

TABEL 21. RÖNTGENOLOGISCH BEELD, BEHORENDE BIJ 43 GEMENGDE HAARDEN
Röntgenologic appearance of 43 partly softened or liquefied caseous lesions

Uit tabel 20 en 21 blijkt dus, dat enerzijds onder de haarden, die röntgenologisch het beeld van „haard met kleine opheldering” hadden vertoond, een aantal voorkwam, dat geen gemengde haard leek. Anderzijds hadden de haarden, die bij grotendeels vaste of taaie

consistentie een gedeeltelijke verweking of vervloeiing vertoonden, dit röntgenologisch slechts in de helft der gevallen door een opheldering doen blijken. Wel waren hierbij een vrij groot aantal, waarbij de schaduw op het planigram ongelijkmatig van dichtheid was; dit had echter ook veroorzaakt kunnen zijn door uitbochting van de wand of haarden, die er vlak voor of achter lagen. Of de haarden gedeeltelijk vervloeid of gedeeltelijk slechts weker waren dan hun hoofdmassa, maakte geen verschil in het aspect dat ze op het planigram boden (zie tabel 21).

Uit tabel 22 blijkt, dat de haardgrootte geen duidelijke invloed had op de kweekbaarheid van de bacteriën uit deze haarden, noch het feit of de haarden deels vervloeid of gedeeltelijk weker van consistentie waren.

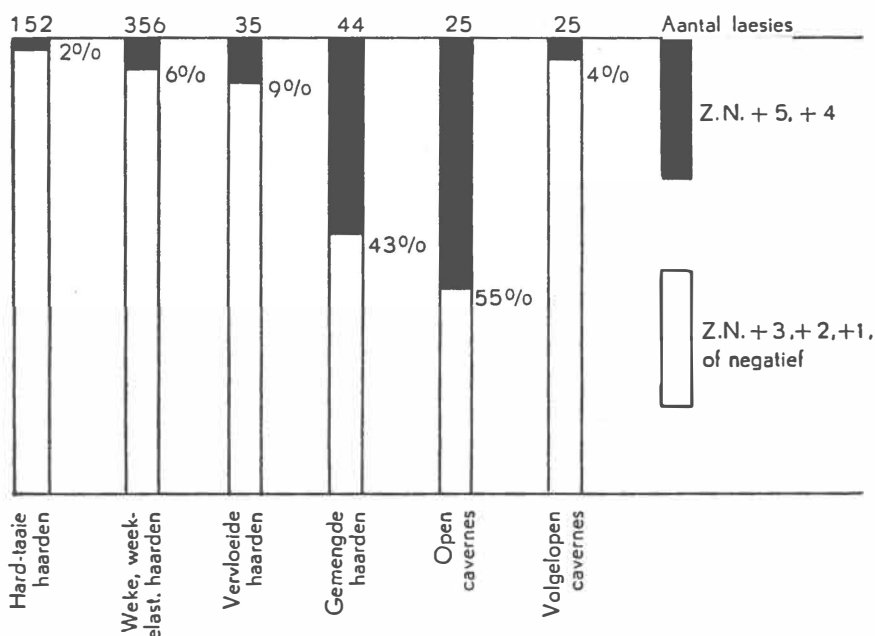
Consistentie	Haardgrootte							
	$\frac{1}{2}$ —1 cm		1—2 cm		groter dan 2 cm		Totaal	
	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.
Gedeeltelijk vervloeid	2	—	16	3	11	3	29	6
Gedeeltelijk verweekt	3	1	9	1	3	1	15*	3
Totaal	5	1	25	4	14	4	44*	9

TABEL 22. Kweekbaarheid en haardgrootte bij operatie van 44 gemengde haarden

Viability of bacilli related to size in 44 partly softened or liquefied caseous lesions

* Deze groepen zijn 1 geval groter dan in tabel 21 door toevoeging van een gemengde haard, die röntgenologisch niet goed zichtbaar was.

Uit figuur 3 blijkt, dat in vergelijking met de hard-taaie, de weke en week-elastische en met de vervloeide haarden er onder de gemengde haarden een groter percentage was met een grote bacteriedichtheid van de kazige substantie, wanneer deze werd uitgestreken op het objectglaasje. Daar de uitstrijkbaarheid van het materiaal in deze soorten haarden ongeveer gelijk was, is het aannemelijk, dat er inderdaad een groter percentage bacterierijke haarden onder de gemengde haarden was.



Figuur 3. BACTERIEDICHTHEID IN LAESIES VAN VERSCHILLENDE AARD

Number of stainable bacilli in caseous lesions of various consistency, of filled-in and of open cavities

Terwijl dus het aantal gemengde haarden met veel kleurbare bacteriën relatief groot was, blijkt uit tabel 23 dat ook speciaal hierbij het vaakst kweekbare bacteriën werden gevonden in een frequentie, die niet veel verschilde van die der open cavernes, terwijl dit bij de weke, week- elastische en vervloede haarden niet het geval was. Deze verhouding bij de gemengde haarden gold, zowel voor het hoge percentage bacterierijke haarden als voor de frequente kweekbaarheid daaruit, ook, wanneer in plaats van de 44 röntgenologisch goed te vervolgen alle 76 gemengde haarden werden genomen. Onder de waargenomen volgelopen cavernes kwamen echter even weinig bacterierijke voor als onder de homogene kaashaarden. In 13 gevallen, waar een klein week of vervloeid plekje vlak onder de kapsel leek te liggen juist in het gebied, waar een bronchus tegen de haard eindigde (ook zonder dat deze tot in de haarden te sonderen

Consistentie van de haarden	bacteriedichtheid van de haarden						totaal		
	Z.N. +5, +4			Z.N. +3, +2, +1 of neg.					
	aant.	pos. Cu.	%	aant.	pos. Cu.	%	aant.	pos. Cu.	%
Weke en weck-elastische haarden	21	2	10 %	335	34	10 %	356	36	10 %
Vervloeiende haarden	3	—	—	32	3	9 %	35	3	8 %
Gemengde haarden	19	8	42 %	25	1	4 %	44	9	18 %
Open cavernes	9	5	55 %	16	5	31 %	25	10	40 %
Volgelopen cavernes	1	—	—	24	3	12 %	25	3	12 %

TABEL 23. BACTERIEDICHTHEID EN KWEKBAARHEID BIJ LAESIES VAN VERSCHILLENDE AARD

Viability and number of stainable bacilli in caseous lesions, filled-in and open cavities

Behandelingsduur in maanden	Bacteriedichtheid der haarden					
	Z.N. +5, +4		Z.N. +3, +2, +1 of neg.		totaal	
	aant.	pos.	aant.	pos.	aant.	pos.
0— 3½	2	2	1	—	3	2
4— 6½	6	4	9	1	15	5
7— 9½	8	2	11	—	19	2
10—12½	2	—	3	—	5	—
13—18	1	—	1	—	2	—
totaal	19	8	25	1	44	9

TABEL 24. Kweekbaarheid der bacteriën bij verschillende behandelingsduur en bacteriedichtheid der gemengde haarden

Viability of bacilli in partly softened or liquefied caseous lesions with various numbers of stainable bacilli related to duration of chemotherapy

was), waren de bacteriën in 1 geval kweekbaar. In 5 van deze 13 keren was dit gebied zeer bacterierijk.

Behandelingsduur in maanden	Bacteriedichtheid der haarden	
	+5, +4	+3, +2, +1, neg.
0— 6½	42 %	40 %
7— 9½	42 %	42 %
10—18	16 %	18 %
totaal	19 = 100 %	25 = 100 %

TABEL 25. Indeling naar lange en korte behandeling van de gemengde haarden met grote en met geringe bacteriedichtheid

Duration of chemotherapy in partly softened caseous lesions related to number of stainable bacilli

Uit tabel 25 blijkt dat de verhouding tussen kort en lang behandelde haarden in de groepen haarden met grote en met matige of geringe bacteriedichtheid gelijk was, zodat verschil in behandelingsduur niet de oorzaak kan zijn geweest van het feit, dat er onder de groep met bacterierijke haarden zoveel meer met kweekbare bacteriën waren (tabel 24).

Eenzijds werden dus bij gelijke, vrij korte behandelingsduur uit bacterierijke haarden vaker bacteriën gekweekt dan uit bacterie-

arme haarden, anderzijds leek het of bij toenemende behandelingsduur ook bij de bacterierijke haarden het voorkomen van kweekbare bacteriën afnam. Vooral bij de lang behandelde gevallen waren er echter te weinig om hierover iets zekers te zeggen.

Rö.beeld bij opname	aantal	pos. Cu.
grootte < 2 cm	3	2
grootte > 2 cm	16	6
opheldering 1—1,5 cm	4	3
opheldering \pm 0,5 cm	6	2
geen duidelijke opheldering	9	3
preoperatief nog kleine opheldering	5	3

TABEL 26. RÖNTGENBEELD BIJ 19 GEMENGDE HAARDEN MET BACTERIEDICHTHEID +5, +4

Röntgenological appearance of 19 partly softened or liquefied caseous lesions with numerous stainable bacilli

Tenslotte is in tabel 26 nog het röntgenbeeld behorend bij de 19 gemengde haarden met grote bacteriedichtheid gegeven. 5 haarden hadden kort voor operatie nog een kleine opheldering, welke in alle gevallen gevuld was met weke of vervloede kaas; geen enkele bevatte lucht. Slechts 1 patiënt had in de laatste 3 maanden nog positief sputum, de anderen waren negatief geweest, of alleen bij 't begin van de kuur positief.

De haarden, die door ons onder de benaming „gemengde haarden” apart zijn bekeken, hadden als gemeenschappelijk kenmerk, dat het goed afgegrensde haarden waren, die gedeeltelijk uit min of meer taaie kaas bestonden en gedeeltelijk uit verweekt, d.w.z. smeerbaar, of ook vervloeid materiaal. Het was ongetwijfeld een heterogene groep, waarvan de afzonderlijke haarden, daar ze alleen macroscopisch zijn beoordeeld, niet zeker waren in te delen. MUNTINGHE (1959) geeft in zijn proefschrift de volgende indeling aan, welke in de literatuur gegeven wordt van de afgekapselde tuberculeuze kaashaarden:

- a) Kaashaarden met concentrische ringen.
- b) Homogeen verkaasde pneumoniehaarden.

c) Conglomeraat-kaashaarden.

d) Volgelopen cavernes.

De betiteling „tuberculoom” is gegeven aan haarden, die klinisch gepaard gaan met paucibacillair sputum, weinig algemene ziekteverschijnselen en waarbij röntgenologisch het beeld voorkomt van goed afgegrensde haarden, die hetzij stationair blijven, hetzij geleidelijk toenemen en die ook nogal eens een opheldering gaan vertonen, waarbij een bronchogene uitzaaiing betrekkelijk weinig voorkomt. Sommigen, zoals in ons land WILLEMSE (1953), SNIJDER (1953) en STRAUB (1957) reserveren de naam tuberculoom voor de haarden met concentrische ringen, anderen zoals HARMSSEN (1950), SCHEIER (1953), DEELMAN (1955) en MUNTINGHE verstaan er bovendien de homogeen verkaasde pneumoniehaarden en de conglomeraat-kaashaarden onder, die röntgenologisch een niet zo mooi afgeronde, maar vaak een wat hoekiger begrenzing hebben. Daar deze haarden ontstaan zijn door verkazing van een longgebied waarin een exsudatieve of productieve tuberculeuze ontsteking bestond, zijn in de kaas elastische en collagene vezels en reticulumvezels in verschillende hoeveelheid en rangschikking aanwezig. In veel haarden komen ook structuurloze gebieden voor, waaruit de vezels verdwenen zijn. Hierin moet verweking zijn opgetreden volgens BARRITY e.a. (1953). Wanneer het gebied bij onderzoek weer vast is, zou na de verweking weer indroging zijn opgetreden. De oorzaak van verweking van tuberculeuze kaas is niet bekend. Veel onderzoekers vonden verweking speciaal op die plaatsen in kaashaarden, waar door middel van daar aanwezige bronchi zuurstoftoevoer mogelijk zou zijn (NASSAU e.a. 1956), hetzij deze bronchi centraal in de geringde haarden lagen zoals WILLEMSE bij zijn tuberculomen zag, hetzij dat deze bronchi in de periferie van het verkaasde gebied liepen en er hier een excentrische, schilvormige verweking was ontstaan (MUNTINGHE). Door een open, met de haar verbonden, bronchus kan het verweekte materiaal wegvloeien, zodat een holte ontstaat. Het verweekte gebied zou in schilvormige tuberculomen meestal meer beperkt zijn dan wanneer het in de homogeen verkaasde haarden voorkomt.

De onderzoekers, die in op tuberkelbacteriën gekleurde coupes

naar zuurvaste staafjes gezocht hebben, vonden die niet of slechts zeer zelden in gebieden met vezelige structuur (MAC LEOD 1952). WILLEMSE vond vaak veel bacteriën in het verweekte gebied, grenzend aan de centrale holte. BARIETY e.a. vonden in 21 van 32 bestudeerde haarden bacteriën, meestal in de verweekte kaas aan de rand van uithollingen, slechts in 2 gevallen in structuurloze gebieden, hoewel die talrijk voorkwamen. De bacteriën waren vaak zeer talrijk. Soms waren ze slechts bij een van twee uithollingen in een tuberculoom te vinden, soms kwamen er aan de rand van uithollingen geen bacteriën voor. MEDLAR (1955), die vond dat bij nauwkeurig onderzoek haast elke kaashaard aan een bronchustakje bleek te grenzen, waarbij ter plaatse de haardkapsel ontbrak, beschouwde de toetreding hierdoor van neutrofiele leucocyten als een factor voor het optreden van verweking in de kaas. Hij vond niet speciaal de verweking en de polynucleairen in de gebieden waar veel bacteriën te zien waren. Hij vond de bacteriën vaak in het al dan niet verweekte centrum van de haarden. Ook BARIETY e.a. zagen structuurloze gebieden met leucocyten meer in randstandige cavernes, bacteriën meer in de zoom van verweekte kaas om centrale holten, waar zij geen polynucleairen zagen.

Onze groep gemengde haarden behoorde röntgenologisch en wat hun macroscopisch aspect betrof tot de door MUNTINGHE opgesomde soorten. Enkele hadden een zekere ringvorming, enkele waren uit meer kaashaarden opgebouwd, waarvan de verkaasde kapsels nog waren te onderscheiden, de meeste leken homogeen verkaasde haarden. Het was niet te onderscheiden of deze gemengde haarden, voor zover het verweekte of vervloeide gebied aan de rand van de haard lag, hun vervloeide inhoud al hadden geledigd en later weer waren volgelopen. Een voor een dunne sonde doorgankelijke bronchus was maar in een paar gevallen aan te tonen, maar er kan een nauwere opening geweest zijn, of een eerder aanwezige opening kan weer zijn gesloten. In deze gemengde haarden was, zoals in figuur 3 werd weergegeven, vaker een grote bacteriedichtheid dan in de haarden met hard-taaie, week-elastische, weke en vervloeide kaas en ook dan in volgelopen cavernes. In 7 haarden waarbij dit zonder contaminatie van het vaste deel door de wekere inhoud onderzocht kon worden,

bleek de verweekte inhoud aanzienlijk rijker aan bacteriën dan het vaste stuk van de haard. In 2 gevallen waren bacteriën alleen te kweken uit het verweekte, zeer bacterierijke deel van de haard. Daarbij bleken uit de haarden met grote bacteriedichtheid de bacteriën vaker te kweken dan uit die met weinig bacteriën (tabel 23). Samenvattend kan van de door ons onderzochte, gedeeltelijk verweekte of vervloeiide haarden gezegd worden:

- a) dat zij slechts gedeeltelijk identiek waren met de haarden, die röntgenologisch een kleine opheldering hadden vertoond;
- b) dat zij, op één geval na, bij kleuring steeds tuberkelbacteriën bevatten;
- c) dat de haardgrootte geen invloed had op de kweekbaarheid;
- d) dat ze in vergelijking met andere kaashaarden en met volgelopen cavernes vaker een grote bacteriedichtheid bezaten en dat juist uit de haarden met grote bacteriedichtheid betrekkelijk vaak bacteriën te kweken waren;
- e) dat ook bij deze haarden de positieve kweken minder frequent leken te worden bij langer durende medicamenteuze behandeling.

§ 4. DE CAVERNES.

Er waren 75 resectiepreparaten afkomstig van patiënten, die bij hun opname in het sanatorium of kort te voren een röntgenologisch duidelijke caveerne hadden. Bij 6 van deze patiënten bestonden er 2 cavernes in het later gereseceerde gebied, bij 3 verscheidene. Op het laatste voor de operatie gemaakte planigram was nog 24 keer een duidelijke caveerneconfiguratie zichtbaar. In de andere gevallen was er een volgelopen caveerne of klein litteken, enkele malen was er op het planigram geen cavernerest meer te vinden. Dit gebeurde soms, wanneer de caveerne gelegen was geweest in een geschrompeld, verdicht gebied of ook temidden van vele haardschaduwen, waarbij het gehele beeld te zeer veranderd was, dan dat er nog voldoende oriëntatie mogelijk was. In het resectiepreparaat werd 12 keer de cavernerest of het litteken, dat volgens het röntgenonderzoek verwacht werd, niet gevonden. In 67 gevallen werd wel een onmiskenbare caveerne of genezingsvorm daarvan aangetroffen.

Het sputum of de nuchtere maaginhoud was in 66 van deze caver-

neuze gevallen tijdens de opname positief geweest op tuberkelbacteriën. In de laatste 3 maanden voor operatie was dit nog in 17

	Rö. open cavernes		Rö. gesloten cavernes		totaal	Cu. pos.
	totaal	Cu. pos.	totaal	Cu. pos.		
Sputumflora resistent	4	1	3	—	7	1
Sputumflora niet resistent	7	—	31	2	38	2
totaal	11	1	34	2	45	3

TABEL 27. Kweekbaarheid van de bacteriën uit röntgenologisch open of gesloten cavernes, bij gevoelige of resistente sputumflora, bij patiënten, die reeds langer dan 3 maanden negatief waren

Viability of bacilli in röntgenologically open or closed cavities from cases with sensitive or resistant sputum bacilli. Sputum negative for more than 3 months

gevallen zo: 9 keer was nog slechts het Z.N.-preparaat positief bij negatieve kweek, 1 keer alleen de sputumkweek, 7 maal zowel het directe als het kweekonderzoek.

Sputumflora		Rö. open cavernes		Rö. gesloten cavernes		To-taal	Cu. pos.
		totaal	Cu. pos.	totaal	Cu. pos.		
resistent	Cu. sputum pos.	6	5			6	5
	alleen Z.N. pos.	1	1			1	1
niet resistent	Cu. sputum pos.	1	—			1	—
	alleen Z.N. pos.	5	2	1	—	6	2
totaal		13	8 (= 61 %)	1		14	8

TABEL 28. Kweekbaarheid van de bacteriën uit röntgenologisch open of gesloten cavernes, bij gevoelige of resistente sputumflora, bij patiënten, die in de laatste 3 maanden nog positief waren

Viability of bacilli in röntgenologically open or closed cavities from cases with sensitive or resistant sputum bacilli. Sputum positive in the last 3 months before operation

In tabel 27 en 28 is van 59 cavernes, die preoperatief röntgenologisch goed te vervolgen waren, het voorkomen van positieve caverne-

kweek vermeld, vergeleken met de sputumpositiviteit voor operatie. Uit tabel 27 blijkt dan, dat van 11 patiënten met nog open caveerne maar negatief sputum er slechts bij 1 patiënt bacteriën uit de caveerne gekweekt werden, die overigens net als tevoren het sputum resistent waren tegen Sm, PAS en INH. Van 34 röntgenologisch gesloten cavernes leverden 2 sinds kort volgelopen cavernes kweekbare en gevoelige bacteriën.

Tabel 28 laat zien, dat van de 14 cavernes, waarvan de patiënten in de laatste 3 maanden nog positief sputum hadden (dat niet noodzakelijkerwijs steeds uit de caveerne hoefde te komen) er 6 geen kweekbare bacteriën leverden. Van de bacteriën die alleen in het Z.N.-preparaat van het sputum gevonden werden, maar niet meer kweekbaar waren, is hier aangenomen, dat ze dezelfde gevoeligheid voor chemotherapeutica hadden als eerder gekweekte bacteriën van deze patiënten; wanneer de sputumkweeken steeds negatief geweest waren, zijn ze bij de gevoelige gerangschikt. Het bleek echter, dat de enige 2 cavernes met wel-kweekbare bacteriën uit de groep met tevoren niet aangetoonde resistentie van de sputumflora INH-resistente bacteriën bevatten.

In hoofdstuk III zijn de röntgenologische en anatomische verschijningsvormen van de cavernes beschreven. In tabel 29 zijn deze, zoals ze bij onze onderzochte serie patiënten werden aangetroffen, met elkaar vergeleken. Het bleek, dat de röntgenologisch nog op een actieve caveerne duidende configuraties in 5 van de 6 gevallen cavernes met necrotische wand waren, waaruit 4 keer een resistente bacteriepopulatie gekweekt werd; 1 keer was de wand vrijwel gereinigd en bevatte zeer weinig bacteriën. Bij de 18 cavernes, waarvan het röntgenologisch aspect niet meer zo floride scheen, leek er in 12 gevallen nog een necrotisch wandbeslag te zijn met 5 keer een positieve kweek; de 5 min of meer gereinigde en de ene volgelopen caveerne waren kweek-negatief.

Van de 18 volgens het planigram in een haardvormige rest veranderde cavernes waren er 15 volgelopen, met 2 keer een positieve kweek; 3 waren kleine bindweefsellittekens. Van alle 25 gevonden volgelopen cavernes hadden er 3 een positieve kweek. Van de 17 cavernes, die röntgenologisch in een grof of klein litteken veranderd waren,

bleken er 5 volgelopen cavernes te zijn, de andere 12 inderdaad bindweefselige littekens.

Bij onze gevallen was het duidelijk, dat de bacteriedichtheid in de cavernes met necrotische wand over 't algemeen aanzienlijk groter was dan bij de min of meer gereinigde. De enige grotendeels gereinigde caveerne met Z.N. + 5 bevatte in een klein brokje kaas in een nisje van de wand een zeer groot aantal bacteriën, die niet groeiden. Ook in de volgelopen cavernes was het aantal bacteriën over het algemeen geringer dan in die met necrotisch beslag, hoewel ettelijke van deze cavernes nog maar korte tijd volgelopen waren. In de bindweefsellittekens werden geen of zeer weinige bacteriën gezien, ook niet bij aanwezigheid van een klein week centrum. 14 keer stond de caveerne in ruime communicatie met een bronchus, 11 keer bij necrotische wand, 2 keer bij min of meer gereinigde wand, 1 keer bij een volgelopen caveerne. Ook CANETTI (1958a) vond in cavernes met necrotische wand vaker een doorgankelijke bronchus dan in geheel of gedeeltelijk gereinigde cavernes en nog minder vaak bij volgelopen cavernes. Open bronchus ging in onze serie 4 keer niet met positieve kweek gepaard en 3 keer werden bij gesloten bronchus wel bacteriën gekweekt. Uit 10 van 13 cavernes met open bronchus konden bacteriën worden gekweekt, uit 1 van 12 deels met lucht gevulde cavernes met gesloten bronchus. Drie cavernes, die een dunne wand hadden, vrijwel gereinigd en waarvan de bronchus niet te sonderen was, bevatten lucht, die onder spanning stond, waarbij de wand verslapte, toen deze werd aangesneden. Of hier een ventielmechanisme in de bronchus was, of dat er via de dunne cavernewand communicatie met het omliggende longweefsel was, zoals KEERS (1956) beschreef, was niet duidelijk.

Cysteachtige, zeer dunwandige gereinigde cavernes, zoals die vooral na behandeling met INH beschreven zijn (GALY e.a. 1953, JOHNSON e.a. 1954) waren in deze resectiepreparaten niet aanwezig. Het meest er op leek een oorspronkelijk 5 cm grote caveerne, die in de loop van 12 maanden behandeling met INH en andere middelen tot 2 cm verkleind was, bij een vrouw, die bij opname door voorafgaande behandeling thuis, reeds resistent was tegen 100 γ Sm en 0,3 γ PAS. De caveerne was ovaal en dunwandig geworden, echter niet zo bulleus

Preoperatief Röntgenbeeld	anatomisch beeld									
	necrotisch wand- beslag, deels met lucht gevuld		gladde wand, soms nog iets pus of kaas		volgelopen; inhoud brokkelige of weke kaas of vervloeid		bindw. litteken evt. met kleine kaas- of kalkbrokjes		totaal	
	Cu. pos.	Cu. neg.	Cu. pos.	Cu. neg.	Cu. pos.	Cu. neg.	Cu. pos.	Cu. neg.		
Nog actief caverneaspect. (grootte gelijk of wat kleiner geworden).	5 5 3 2 1	2		1					6	
Floride caverneaspect verdwenen ***	5 5 5 3 3 1	5 4 3 3 2 2		3 1 1 0* 0**		1			18	
Cavernerest haardvormig, vrij groot, soms nog met dubieuze opheldering					3 2	4 3 2 2 2 2 2	2 1 1 0 0	1 1 0	18	
Litteken stervormig, grof of klein						3 3 2 1 0		2 2 2 2 1 0	0 0 0 0 0	17

beoordelen									2				o
Bacteriedichtheid	5x	+5	1x	+5	1x	+5	1x	+3	1x	+4		4x	+2
	3x	+3	1x	+4	1x	+3	1x	+3	3x	+3		4x	+1
	2x	+2	2x	+3	3x	+1	1x	+1	10x	+2		7x	0
			4x	+2	2x	0			5x	+1			
									3x	0			
totaal	10		8		7		3		22		15		65

TABEL 29. AANTAL BACTERIËN EN Kweekbaarheid bij CAVERNES MET VERSCHILLENDE PREOPERATIEF RÖNTGENBEELD EN MACROSCOPISCH CAVERNE-ASPECT

Viability and number of stainable bacilli in cavities with varying preoperative röntgenology related to macroscopic aspect of cavity-wall and content

Elk cijfer stelt 1 caverne voor.

5 = +5 (bacteriedichtheid vlg. schaal BRONKHORST).

4 = +4 etc.

0 = geen bacteriën in Z.N.-preparaat gevonden.

— onder het cijfer: de betreffende caverne had een open in de caverne uitmondende bronchus.

* bevatte helder vocht onder spanning

** het beschreven geval met geheel gereinigde wand.

*** zie de beschrijving in hoofdstuk III.

Behandelingsduur	Macroscopisch aspect									
	necrotische wand		min of meer gereinigde wand		volgelopen		(klein) bindw. litteken		totaal	
	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.	aant.	Cu. pos.
minder dan 9 maanden	6	4	2	—	17	3	8	—	33	7
9 maanden en langer	12	6	5	—	8	—	7	—	32	6
Totaal	18	10 = 55%	7	—	25	3 = 12 %	15	—	65	13

TABEL 30. KWEEKBAARHEID DER BACTERIËN BIJ VARIËREND MACROSCOPISCH CAVERNE-ASPECT EN VERSCHILLENDE BEHANDELINGSDUUR.

Viability of bacilli in caseous, partly clean, filled-in cavities and scars related to duration of treatment.

als wel beschreven is en ook door ons bij andere patiënten is waargenomen. Deze caveerne bleek een afgesloten bronchus te hebben, lucht onder spanning te bevatten en een volkomen gladde, lichtgrijze, matig dikke wand te hebben. Tuberkelbacteriën werden bij kleuring noch kweek gevonden. De histologische coupe van de wand vertoonde een gladde, fibreuze wand. Naast deze open gebleven caveerne was er een grote volgelopen caveerne met weinig kleurbare bacteriën en negatieve kweek. (Geval 160, zie afb. 4).

Het tijdstip, waarop bij de caveerneuze gevallen resectie werd uitgevoerd, varieerde bij de verschillende vormen en werd niet alleen door de toestand van de caveerne maar evenzeer door de andere bij de patiënt voorkomende longafwijkingen bepaald; bovendien werd liefst gewacht tot het sputum negatief was geworden, wat meestal ook na lange behandeling niet gebeurde bij de gevallen met sterke resistentie. Het blijkt uit tabel 30, dat van de 18 cavernes met necrotische wand zowel onder de lang als de vrij kort behandelde ongeveer de helft een positieve kweek gaf; van de 8 met negatieve kweek waren er 6 al langer dan 3 maanden negatief, 1 was tegen 3 medicamenten resistent, met een moeilijk kweekbare sputumflora, bij 1 patiënt met gevoelige sputumbacteriën was de caveerne bij operatie opengegaan en leeggezogen. Een min of meer gereinigde wand werd vooral bij de lang behandelde gezien. Vrij veel patiënten met een volgelopen caveerne werden al tamelijk vroeg geopereerd;

Anatomisch aspect	Sput. meer dan 3 maanden neg.		Sput. laatste 3 maanden nog pos.	
	aant.	pos. Cu.	aant.	pos. Cu.
necrotische cavernewand	8	2	10	8
min of meer gereinigde cavernewand	3	—	4*	—

TABEL 31. Kweekbaarheid der bacteriën uit cavernes met necrotische en min of meer gereinigde wand, vergeleken met de preoperatieve sputumpositiviteit

Viability of bacilli in caseous and partly clean cavities related to sputum negativity or positivity before operation

* Alle 4 met pos. Z.N. van het sputum bij neg. cultuur.

de 3 positieve cavernes hierbij waren alle vroeg geopereerd. Bindweefsellittekens werden zowel bij de kort als bij de lang behandelde gezien.

Uit tabel 31 blijkt, dat, wanneer bij necrotische cavernewand het sputum negatief was, er niet vaak bacteriën gekweekt werden. Bij min of meer gereinigde cavernewand werden, ook wanneer het microscopisch sputumonderzoek nog bacteriën aantoonde, uit de caverne geen bacteriën gekweekt.

In 6 gevallen waar uit de cavernerest, d.w.z. de volgelopen caverne of het bindweefselige litteken, de kweken negatief waren, konden wel bacteriën gekweekt worden uit strooihaardjes.

Bij de behandeling van de caverneuze longtuberculose met chemotherapeutica kan een genezingsvorm voorkomen, die tevoren onbekend was of slechts zelden voorkwam en die door de resectie-therapie ook pas anatomisch onderzocht kon worden. Terwijl tevoren slechts het vollopen van de caverne en de vorming van een bindweefsellitteken als genezingsvormen werden waargenomen, blijkt er nu een genezing van de cavernewand voor te komen, waarbij de bacteriën verdwijnen, evenals de histologisch voor tuberculose kenmerkende structuren, maar waarbij de caverne als met lucht gevulde holte blijft bestaan. De wand is daarbij meestal bekleed met een fibreuze laag, zelden geheel met epitheel. De bronchus kan open blijven, maar zich ook sluiten. Klinisch laat zich deze genezingsvorm vermoeden, wanneer na het inzetten van de behandeling het sputum negatief wordt, de caverne dunwandig wordt en zijn aspect van scherp in de omgevende ringschaduw uitgeponste opheldering verliest. Wanneer hij hierbij dan ook groter wordt en slechts een nog zeer dunne ringschaduw als contour heeft, spreekt men van "caverne bulleuse". (GALY 1953, JOHNSON 1954). Soms blijft dit beeld bij voortgezette observatie bestaan, in andere gevallen verandert het op den duur toch in een klein litteken. Bij deze röntgenologische verschijningsvorm blijkt inderdaad meestal een anatomische en bacteriologische genezing te bestaan. Niet altijd echter, zoals uit de onderzochte caverne in het resectiepreparaat kan blijken, maar ook soms wanneer de toediening van chemotherapeutica te

vroeg gestaakt wordt; dan kan de caverne weer dikwandiger worden en het sputum weer positief.

Anderzijds wordt soms ook een volledige genezing aangetroffen in de wand van cavernes, die röntgenologisch wel het typische beeld van actieve caverne hadden verloren, maar waarbij toch geen bulla was ontstaan. Vaker dan de totale genezing komt hierbij een gedeeltelijke voor. Hierbij is de wand geheel of plaatselijk van zijn necrotische laag ontdaan en bestaat uit granulatieweefsel met min of meer specifieke kenmerken. Ook zijn de bacteriën sterk in aantal verminderd, maar toch niet geheel afwezig. Hun kweekbaarheid is vaak gering. Het sputum is bij deze patiënten vaak negatief. Dit geeft in deze gevallen, waarbij nogal eens de bronchus gesloten is, niet steeds een weerspiegeling van de bacterieflora in de caverne. Sommige onderzoekers, die het klinische en het anatomische beeld van cavernes onder chemotherapeutische behandeling vergeleken hebben, twijfelen er aan of er röntgenologische criteria zijn, waarbij volledige open genezing zeker is (RENAULT 1957, AUERBACH 1957). Hun meeste patiënten werden vrij kort behandeld, van 6 tot 12 maanden, wat voor het bereiken van een dergelijke genezing betrekkelijk kort is.

Daarnaast wordt er op gewezen, o.a. door PAILLAS (1957) en KEERS (1956), dat een gladde wand, die er gereinigd uitziet in het resectie-preparaat, nog gepaard kan gaan met plaatselijk histologische tekenen van tuberculeuze ontsteking en met aanwezigheid van bacteriën, zodat het nodig is, van dergelijke cavernes op verschillende plaatsen coupes te maken. KEERS vond op 7 cavernes, die er gereinigd uitzagen, bij 6 histologisch nog tuberculeuze afwijkingen en nog bacteriën. Dit waren röntgenologisch geen bulleuze cavernes geweest. De frequentie van deze veranderingen aan de caverne onder chemotherapie kan dus slechts vastgesteld worden aan geopereerde gevallen; dit maakt, dat een selectie plaats vindt ten opzichte van het totaal der chemotherapeutisch behandelde patiënten. De geopereerde patiënten zijn gemiddeld waarschijnlijk korter behandeld dan patiënten waarbij getracht is alleen door chemotherapeutische behandeling open cavernegenezing te bereiken.

Naast het anatomisch onderzoek geeft lang voortgezette observatie

van niet-geopereerde patiënten een aanwijzing voor de betrouwbaarheid van de genezing van bulleuze cavernes. Wanneer op periodiek gemaakte planigrammen duidelijk de verandering van gewone cavernes in de bolle, dunwandige of zeer dunwandige bullae kan worden vervolgd, deze ook verder planigrafisch worden gecontroleerd, het sputum lange tijd negatief is en de chemotherapeutische behandeling lang wordt voortgezet, blijken in de tijd daarna deze bullae zelden te recidiveren (MULDER 1960).

RENAULT e.a. (1957) vonden op 414 geopereerde cavernes 114, die min of meer gereinigd waren (détergées), waarvan zij er 65 als geheel genezen (cicatricielles) beschouwden.

PAILLAS e.a. (1957) zagen op 159 geopereerde cavernes 14 open genezene.

THOMPSON (1955), die 240 tussen 1948 en 1954 geopereerde gevallen onderzocht, vond ze pas bij de in 1952 en later geopereerden. Hierbij leken 16 geheel genezen, terwijl 7 op kleine delen van de wand nog tuberculeuze afwijkingen vertoonden.

MEDLAR heeft in zijn materiaal, dat echter van vóór 1955 dateert, geen enkel geheel genezen open caveerne waargenomen.

RIJNBERG (1954) beschreef 1 bijna geheel genezen geval uit de vóór 1954 in Beatrixoord (Appelscha) geopereerde serie patiënten.

CANETTI (1958a) vond op 450 geopereerde cavernes 83 gedeeltelijk gereinigde en 66 geheel genezen open cavernes.

Zowel RENAULT als AUERBACH vonden, dat de open genezing niet alleen bij langdurig behandelde patiënten voorkwam, maar ook wel bij hen, die slechts enkele maanden chemotherapeutica kregen.

Onze eigen serie cavernes is klein en er kwamen, zoals reeds vermeld, geen bulleuze cavernes in voor. Slechts 1 geval zonder bulleuze vorm leek geheel gereinigd, wat ook door histologisch onderzoek bevestigd werd. Wanneer röntgenologisch het caveerneaspect was veranderd, in sommige gevallen de caveerne kleiner en dunwandiger en in andere gevallen de opheldering minder in 't oog vallend en vager omgrensd was geworden, was de cavernewand meestal toch nog necrotisch beslagen. Omgekeerd hadden wel de anatomisch min of meer gereinigde cavernes röntgenologisch hun floride aspect verloren. Hoewel uit de 7 min of meer gereinigde cavernes geen bacteriën meer te kwe-

ken waren en het aantal bacteriën in de Z.N.-preparaten meestal gering was in vergelijking met dat van de cavernes met necrotische wand, waren er toch in slechts 2 gevallen geheel geen bacteriën meer te vinden. In hoeverre hier bij voortgezette chemotherapeutische behandeling genezing bij openblijven of sluiten van de caverne zou zijn opgetreden, is niet te beoordelen.

Dat volgelopen cavernes meestal weinig kleurbare bacteriën meer bevatten, vonden ook CANETTI (1954) en WAYNE (1956). Dat er ook weinig bacteriën uit te kweken zijn, vonden ADLER 1955 (positieve kweek in 10% van 39 volgelopen cavernes), MEDLAR 1952 (24% van 58) en CANETTI 1958 (33% van 164). Tussen de min of meer gereinigde en de volgelopen cavernes bestaat weinig verschil in kweekbaarheid van de bacteriën.

Tenslotte volgen in tabel C en D de uitkomsten aan reeksen onderzochte cavernes, die röntgenologisch nog open waren bij operatie, waaronder die van de eigen serie. Hierbij blijken aanzienlijke verschillen te bestaan tussen de gevallen met nog positief sputum bij operatie en vaak resistente bacteriën en andere gevallen, waarbij het sputum reeds geruime tijd negatief was. Uiteraard verschillen de series onderling vrij sterk.

Korte behandeling, sputum meestal nog positief met resistente bacteriën				
Auteur		aant. cavernes	kweek positief	
			aant.	%
MEISSNER	1956a	154	145	94 %
JOHNSON	1956	38	25	66 %
HEATON	1959	104	102	98 %
BERNARD	1954	26	22	84 %
DENST	1956	57	43	75 %
MEDLAR	1952a	29	22	83 %
Eigen gevallen (tabel 28)		13	8	61 %

TABEL C.

Een korte samenvatting van de uitkomsten van het eigen onderzoek kan in de volgende punten gegeven worden:

1. Uit open cavernes werden zelden bacteriën gekweekt, wanneer het

Sputum reeds enige tijd negatief				
Auteur		aant. cavernes	kweek positief	
			aant.	%
HEATON	1959	46	3	6 %
BELL	1956	147	59	40 %
RALEIGH	1955	136	34	25 %
GERNEZ-RIEUX	1954	34	11	34 %
Eigen gevallen (tabel 27)		11	1	9 %

TABEL D.

sputum reeds minstens 3 maanden negatief was. Dit gold zowel voor cavernes met nog een necrotische wand als voor min of meer gereinigde cavernes.

2. Uit min of meer gereinigde cavernes werden geen bacteriën gekweekt.

3. Uit volgelopen cavernes werden zelden bacteriën gekweekt, uit bindweefsellittekens in het geheel niet.

4. De bacteriedichtheid in cavernes met necrotische wand was meestal groot, die in min of meer gereinigde cavernes en volgelopen cavernes gering en in bindweefsellittekens vaak zeer gering.

5. In enige gevallen werden bacteriën gekweekt uit strooihaardjes, terwijl de kweken uit het cavernelitteken of de volgelopen caverne negatief waren.

§ 5. DE GEVALLEN WAARBIJ HET SPUTUM IN DE PREOPERATIEVE PERIODE RESISTENTE BACTERIËN BEVATTE.

Uit ons onderzoek bleek, dat 23 van de 245 patiënten op enig tijdstip vóór de resectie in hun sputum bacteriën hadden uitgescheiden, die resistent waren tegen Sm, PAS of INH of tegen 2 of 3 van deze middelen. Dit is een vrij gering percentage van de hele serie, hetgeen wel samenhangt met het feit, dat vrij weinig van deze patiënten onder behandeling waren gekomen voor caverneuze afwijkingen, nl. 75 van de 245 patiënten. Bovendien kregen de meeste patiënten vanaf het begin van hun behandeling combinaties van de genoemde chemotherapeutica, hetgeen zoals bekend de kans op het optreden van

resistente bacteriën verkleint. Enkele patienten waren al enige jaren ziek of waren in voorafgaande ziekteperioden al medicamenteus behandeld en juist onder dezen waren er, die hetzij thuis of in het sanatorium medicamenten afzonderlijk hadden gehad, waardoor zich hiertegen resistentie van hun bacteriën had ontwikkeld. Patiënten, bij wie resistentie was vastgesteld, werden zoveel mogelijk met de middelen behandeld, waar ze nog geheel of gedeeltelijk gevoelig voor waren. Hier werden de bacteriën dan soms ook resistent tegen. Ook kregen deze patiënten daarbij wel andere, deels minder krachtig werkende middelen, zoals pyrazinamide, tetracycline, viomycine en cycloserine. Ook hiertegen ontstond soms resistentie. Het was daarom moeilijk uit te maken, gedurende een hoe lange tijd het longproces van deze patiënten, nadat resistentie begon op te treden, nog gunstig door de toediening van antibiotica kan zijn beïnvloed.

In tabel 32 zijn deze 23 patiënten verdeeld naar het aantal medicamenten, waartegen ze resistent waren en naar sputumpositiviteit in de laatste 3 maanden. Het blijkt dan, dat de 8 gevallen, waar resistentie der bacteriën tegen 1 medicament in het sputum was vastgesteld, in de laatste 3 maanden voor operatie alle negatief waren en dat uit hun longlaesies in 12 % bacteriën gekweekt werden, dat is in een niet groter percentage dan bij de gevallen zonder sputumresistentie. Hier heeft ook een behandeling met chemotherapeutica-combinaties plaats kunnen vinden, die even efficient was als bij de gevallen zonder resistentie.

Bij de patiënten met een sputumpopulatie, resistent tegen 2 of 3 middelen, kwamen meer positieve laesies voor, nl. 13 van 38. Hierbij waren 8 open cavernes. Van de kaashaarden en volgelopen cavernes waren 5 van de 28 (= 17 %) positief, wat wel iets vaker is dan bij de patiënten zonder sputumresistentie (zie tabel 5), wanneer men bedenkt, dat de behandelingsduur in de laatste ziekteperiode gemiddeld ruim 10 maanden was geweest, variërend van 3 tot 17 maanden. STEWART (1956) kweekte bacteriën uit 43 van 45 gesloten haarden en 19 van 20 cavernes van patiënten, wier bacteriën in het sputum resistent waren tegen de chemotherapeutica, die ze hadden gebruikt in de laatste ziekteperiode. Bij andere patiënten, die, nadat resistentie geconstateerd was tegen bepaalde middelen, verder waren behandeld

				Cavernes							
Res. tegen		sputum laatste 3 mnd		open		volgelopen		klein litteken		krijtig	
	aant.	+	—	aant.	Cu.+	aant.	Cu.+	aant.	Cu.+	aant.	Cu.+
1 med.	8		8			2	—	1	—		
2 med.	8	4	4	2 3	2 2	2	—			4 3	— —
3 med.	7	5	2	5	4					1 2	1 —
totaal	23	9	14	10	8	4	—	1	—	10	1

TABEL 32. Kweekbaarheid uit longafwijkingen van patiënten, wier sputumpopul.
Viability of bacilli in lesions of patients, in whose sputum before operation the bacilli were resi

met andere, waar ze gevoelig voor waren, nam het aantal haarden met positieve kweek af bij toeneming van de duur van die verdere behandeling, juist zoals zij — evenals wij — vond bij gevallen zonder resistente sputumflora.

De gevallen van STEWART met een resistente sputumpopulatie waren waarschijnlijk voor het grootste deel ver voortgeschreden gevallen, zoals door haar en TURNBULL (1956) voor een deel ervan uitvoeriger is beschreven: het waren voor een deel zelfs autopsie-gevallen. Ook waren ze door een nu onvoldoend geachte antibiotische behandeling resistent geworden.

Onze gevallen met resistentie tegen 2 of 3 medicamenten waren zeker minder uitgebreid en soms nauwelijks actieve tuberculose: bijvoorbeeld bij de man, die een pneumectomie onderging voor herhaalde infecten in bronchiectasieën in een long onder thoracoplastiek, maar die daar vroeger een caverneuze longtuberculose had gehad, waarbij resistentie tegen Sm, PAS en INH was ontstaan. Zo werd ook bij een patiënt een dubbelzijdige resectie verricht na een lang voortslepend ziektebeloop: aan de ene zijde werden uit een open caverne resistente bacteriën gekweekt, terwijl uit een daar ook aanwezige volgelopen caverne de kweken negatief waren. Aan de

Kaashaarden												
t.	week-elast.		week		vervloeid		gemengd		verkaasde klier		totaal	Cu. +
+	aant.	Cu. +	aant.	Cu. +	aant.	Cu. +	aant.	Cu. +	aant.	Cu. +		
	3	—	8	1	3	—	2	1			25	3 = 12 %
	1 1	— —	1 1	1 —	1	1			1	—	10 13	3 3 } = 26 %
	3	2	2 1	— —							12 3	7 — } = 47 %
	8	2	13	2	4	1	2	1	1	—	63	16 = 25 %

STENT WAS TEGEN 1, 2 OF 3 MEDICAMENTEN (SM, PAS EN INH).

, 2 or 3 drugs (Sm, PAS and INH)

andere zijde werden naast verwijde bronchi en een groot fibreus litteken enkele krijtige hardjes met negatieve kweek onder een dikke pleurazwoerd gevonden. Bij andere patiënten, die nog een open caverne bleven houden en die resistente bacteriën bleven uitscheiden, waren in de loop van de behandeling andere, ook aanwezige, afwijkingen verbeterd. Verder waren er 3 gevallen zonder cavernes, waarbij enkele maanden voor de resectie in een positieve sputumkweek resistente bacteriën waren geconstateerd, die daarna met andere middelen verder waren behandeld en uit wier longafwijkingen geen bacteriën gekweekt werden.

Zoals reeds vermeld is, gelukte het ons vaak niet vast te stellen hoelang de bacteriën gevoelig bleven voor later toegepaste antibiotica, terwijl het ons tevens te betwijfelen leek of middelen als cycloserine en tetracycline gelijkgesteld konden worden aan INH of Sm in hun uitwerking. In elk geval bleek bij deze gevallen, waar reeds resistentie was ontstaan tegen 2 of 3 medicamenten, de toediening van andere middelen niet te hebben voorkomen, dat uit 8 van de 10 in deze preparaten gevonden cavernes bacteriën gekweekt konden worden. Dat daarnaast uit de meeste kaashaarden geen bacteriën gekweekt werden, kan komen, doordat ze uit vroegere ziekte-

perioden hebben gedateerd en toen al negatief geworden zijn. Ze kunnen ook bij de laatste exacerbatie zijn ontstaan, maar genezen zijn onder de toegediende antibiotica.

In 3 gevallen (geval 41, 75, 137, zie tabel 37), die alle lang behandeld waren, werden uit meer dan één laesie bacteriën gekweekt, steeds alle van practisch dezelfde resistentiegraad.

Samenvatting:

Wanneer bij een patiënt resistentie van de bacteriën in het sputum tegen 1 medicament was geconstateerd, leidde dit niet tot een extra groot aantal longafwijkingen met positieve kweken. Ook bij resistentie tegen 2 of 3 medicamenten waren uit de niet-caverneuze afwijkingen in de resectiepreparaten meestal geen bacteriën te kweken. Wanneer in deze gevallen uit meer dan 1 laesie bacteriën gekweekt werden, hadden ze alle dezelfde graad van resistentie.

Hoofdstuk V

De gekweekte bacteriepopulaties

Uit in totaal 87 longlaesies werden tuberkelbacteriën gekweekt. In dit hoofdstuk zullen de uitkomsten worden besproken van onderzoek, dat verricht werd naar enkele eigenschappen van de gekweekte populaties. Nadat eerst in tabel 33 een overzicht is gegeven van de mate van kweekpositiviteit en het voorkomen van resistentie in longlaesies van verschillende aard, zal daarna van de gevoelige populaties en van die, welke resistentie van de bacteriën vertoonden, apart op enkele eigenschappen verder worden ingegaan.

In tabel 33 is de mate van positiviteit onderverdeeld in schaarse groei, d.w.z. minder dan in totaal 10 kolonies op alle ingezette buizen, in matige groei, waarbij in totaal 10 tot 200 kolonies opkwamen en in rijkelijke groei, variërend van ruim 200 kolonies tot dicht confluërend. Daarnaast zijn bij 21 laesies alleen de caviae positief geworden, terwijl de met materiaal uit dezelfde laesie ingezette Löwenstein-bodems negatief bleven. Het is onzeker of dit het gevolg van geringere gevoeligheid van de kweekbodem was dan wel van het toeval, wanneer een gering aantal kweekbare bacteriën in de laesie aanwezig was. Dat dit laatste een rol speelde, is waarschijnlijk, daar omgekeerd van de 18 caviae, ingezet met materiaal uit laesies, die op de Löwensteinbuizen minder dan 10 kolonies opleverden, er 6 geheel geen afwijkingen vertoonden, tegen 1 negatieve cavia onder 21 caviae, die werden ingezet met materiaal waaruit meer dan 10 kolonies groeiden. Dit verschil is significant (voor $p = 0,05$).

Het bleek dan, dat bij haarden, zowel met gelijkmatige als gedeeltelijk verweekte kaas, in grote meerderheid schaarse en in minder gevallen matige groei voorkwam, terwijl slechts weinig haarden rijkelijke groei opleverden en in vrij veel gevallen ook alleen de cavia positief was. Bij volgelopen cavernes kwam geen rijkelijke groei voor. Bij open cavernes daarentegen was 7 van de 10 keren de groei rijkelijk. De enige caverne, waaruit minder dan 10 kolonies groeiden, was ook de enige kweekpositieve caverne onder de ca-

	alleen cavia pos.	< 10 kol.	10—200 kol.	> 200 kol.	totaal	
	niet te bepalen gevoelig resistent voor S P I 2 of 3*	niet te bepalen gevoelig resistent voor S P I 2 of 3	niet te bepalen gevoelig resistent voor S P I 2 of 3	niet te bepalen gevoelig resistent voor S P I 2 of 3		niet te bepalen gevoelig resistent voor S P I 2 of 3
Homogene kaashaarden	1 15 1 1	19 1	1 12 3	1 3	58	2 47 1 2 6
Gemengde haarden	3	2 4 2	1	2 1	15	2 9 4
Volgelopen cavernes		1 1	1		3	1 2
Open cavernes		1	2	1 6	10	2 8
Pus in bronchus			1		1	1
totaal	1 18 1 1 21	3 24 1 3 31	1 14 1 5 21	3 2 9 14	87	5 59 1 2 6 14

TABEL 33. VOORKOMEN VAN VERSCHILLENDE GRAAD VAN KWEEKPOSITIVITEIT EN VAN RESISTENTIE BIJ LONGLAESIES VAN VERSCHILLENDE AARD

Total number of colonies growing from lesions of various type and their resistance to INH, PAS and Sm

* 2 of 3: hier waren de populaties resistent tegen INH en daarnaast tegen PAS en/of Sm.

S: Sm

P: PAS

I: INH

vernes met niet-doorgankelijke bronchus, welke nog lucht bevatten. Van 5 van de 87 populaties kon de gevoeligheid ten opzichte van Sm, PAS en INH niet bepaald worden, omdat ze bij overenting niet meer doorgroeiden. Van de overige hadden 59 een voor deze middelen normale gevoeligheid.

Resistentie alleen tegen Sm kwam 1 keer voor, tegen PAS 2 keer, alle 3 keren bij kaashaarden met schaarse groei of alleen positieve cavia. Resistentie tegen alleen INH kwam 6 keer voor, 4 keer bij een gemengde haard, 2 keer bij een open caveerne. Dit kwam zowel bij schaarse als rijkelijke groei voor. Er was geen enkele cavia, die positief was naast negatieve Löwensteinkweek, wanneer er INH-resistentie bestond. Ook kwam het onder de gevallen, waar kweekbodem en cavia beide positief waren, niet voor, dat er tussen de beide gekweekte populaties verschil bestond in gevoeligheid tegen Sm, PAS of INH.

Het kwam onder onze gevallen dus niet voor, dat uit de ingezette cavia INH-resistente bacteriën werden gekweekt, terwijl de ingezette Löwensteinkweken gevoelige bacteriën opleverden. Dit vond GIERHAKKE (1954) soms wel bij sputum van 31 patiënten, die enige tijd na langdurende chemotherapie een recidief kregen. Hij meende, dat dit een gevolg kon zijn van een betere groei van INH-resistente bacteriën in caviae dan op voedingsbodems, zodat ze op de voedingsbodems verloren gingen.

Resistentie tegen INH en 1 of 2 van de andere middelen kwam vooral bij rijkelijke en in mindere mate bij matige groei voor, maar ontbrak bij schaarse groei. Het werd vooral bij open cavernes waargenomen en ook bij enkele kaashaarden, die voorkwamen in preparaten met open en positieve cavernes, zoals uit tabel 37 kan worden gezien. De open cavernes met kweekbare bacteriën hadden alle een resistente bacterieflora.

Onze bevindingen over verschil in mate van kweekpositiviteit bij verschillende soorten laesies komen overeen met die van CANETTI (1954). Deze vond uit 41 % van 64 kaashaarden een groei van minder dan 10 kolonies en in 18 % ontelbare groei, daarentegen uit 32 open, floride cavernes bij 81 % een ontelbaar aantal kolonies en in slechts 1 geval schaarse groei.

MEISSNER (1957) vond, wanneer ze haarden met gevoelige en met INH-resistente populaties vergeleek, bij gevoelige bacteriën minder vaak rijkelijke groei (in 23 %) dan bij INH-resistente bacteriën (in 47 %). In onze serie waren er onder 59 haarden met voor INH gevoelige bacteriën 3 met rijkelijke groei; onder 10 haarden met INH-resistente bacteriën was de groei 4 keer rijkelijk.

§ 1. POPULATIES MET GEVOELIGE BACTERIËN.

In hoofdstuk IV § 1 is gebleken, dat positieve kweken uit resectiepreparaten vooral bij behandelingsduur korter dan 7—9½ maanden voorkwamen; daardoor zijn slechts 2 positieve haarden langer behandeld. Uit tabel 34 blijkt, dat er bij de niet resistente bacteriepopulaties een afname was in het aantal gevallen met matige en

Behandelingsduur in maanden	alleen cavia pos.	< 10 kol.	10—200 kol.	> 200 kol.	totaal
0—3½		2	1	2	5
4—6½	10	14	12	1	37
7—9½	9	10	1		20
10—12½		1			1
13—18			1*		1
totaal	19	27	15	3	64

TABEL 34. POPULATIES MET GEVOELIGE BACTERIËN. BEHANDELINGSDUUR EN MATE VAN KWEEKPOSITIVITEIT

Duration of chemotherapy and number of colonies cultured of strains with sensitive bacilli

* onderbroken behandeling.

rijkelijke groei, wanneer de behandelingsduur toenam: van 60 % van 5 korter dan 4 maanden behandelden, op 35 % van 37 4—6½ maanden behandelden en 5 % van 20 die 7—9½ maanden behandeld waren. Het verschil tussen de minder dan 7 en de 7—9½ maanden behandelden is significant (voor $p = 0,001$). De haard, die, meer dan 13 maanden behandeld, toch matig veel bacteriën leverde, was afkomstig van een patiënte die een niet aaneengesloten antibiotische behandeling had gehad tijdens haar kuur. De in tabel 34 verzamelde laesies waren alle kaashaarden of volgelopen cavernes; in tabel 33

bleek immers, dat de positieve open cavernes alle resistente bacteriën herbergden.

Virulentie.

Bij 41 positieve laesies werd met het materiaal zowel een cavia als een kweekproef verricht. Hoewel deze caviaproef bedoeld was ter isolatie van eventueel aanwezige kweekbare bacteriën en in zoverre niet als virulentieproef kon gelden, omdat de hoeveelheid ingebrachte, levende bacteriën onbekend was, was het toch interessant na te gaan hoe groot de in de caviae ontstane afwijkingen waren.

Afwijkingen bij directe cavia	alleen cavia pos.	< 10 kol.	10—200 kol.	> 200 kol.	totaal
Gr. 0 met pos. Cu. milt Gr. I Gr. II	6	5	3		14
Gr. III of IV	13	6	5	2	26
Geheel negatief		1			1
Totaal	19	12	8	2	41

TABEL 35. AFWIJINGEN BIJ DE CAVIA EN MATE VAN KREEKPOSITIVITEIT BIJ POPULATIES MET GEVOELIGE BACTERIËN

Extent of lesions in guinea pigs in relation to number of colonies cultured of strains with sensitive bacilli

Uit tabel 35, waar de in de caviae gevonden afwijkingen vergeleken zijn met de mate van kweekpositiviteit van de Löwensteinbodems met hetzelfde materiaal, blijkt, dat in 26 van de 41 gevallen de caviae veel afwijkingen hadden, in 14 gevallen slechts weinig. Deze 14 gevallen zijn gelijkmatig verdeeld over de gevallen waar matige, schaarse of géén groei op de kweekbuis optrad. De 2 gevallen met rijkelijke groei hadden tevens veel cavia-afwijkingen. Er was dus geen samengaan van schaarse of negatieve groei met weinig afwijkingen in de caviae, die met hetzelfde materiaal waren geënt.

Uit tabel 36 blijkt, dat van alle gevoelige populaties, waarmee een virulentieproef bij de caviae gedaan werd, de virulentie normaal was. Ook van 17 op de Löwensteinbodems geïsoleerde populaties, waar-

bij het materiaal uit de laesie niet bij een cavia was geënt, bleek de virulentie normaal te zijn.

Afwijkingen bij directe caviae	Aantal directe caviae	Aantal virulentieproeven	Afwijking Gr. III of IV bij de vir. proef
Gr. 0 met pos. Cu. milt Gr. I Gr. II	14	12	12
Gr. III Gr. IV	26	15	15
Cavia negatief	1	1	1
Totaal	41	28	28

TABEL 36. VERGELIJKING VAN DE AFWIJKINGEN BIJ DE DIRECTE CAVIAPROEF EN DE VIRULENTIEBEPALING BIJ POPULATIES MET GEVOELIGE BACTERIËN

Extent of lesions in the guinea pig used for isolation compared with extent of lesions in the indirect virulence test. Strains with sensitive bacilli

Wanneer men zich afvraagt hoe het kwam, dat in 12 gevallen met virulente bacteriën bij de indirecte caviaproef de eerste cavia zo weinig afwijkingen vertoonde, dan kan dit veroorzaakt zijn door een proeffout, daar niet alle caviae even gevoelig zijn — er werd geen zuiver ras voor de proeven gebruikt — en omdat de eerste inzetting bij één cavia plaats vond. Daarbij komt dan, dat in de 11 caviae waarbij de kweek negatief of zeer schaars was (zie tabel 35) mogelijk zeer weinig bacteriën in de cavia geënt zijn, die daarin dan na 3 maanden nog weinig afwijkingen zouden hebben teweeggebracht. Er zou dus een langzaam voortschrijdende tuberculose zijn, een andere situatie dan bij de bij INH-resistentie verminderd virulente populaties, waar de eerst ontstane afwijkingen na de tweede maand regressief worden. Deze verklaring wordt ook door RIST e.a. (1956a) gegeven, die dergelijke gevallen ook zagen. In de 3 gevallen met matige kweekgroei is het minder waarschijnlijk, dat er zeer weinig kweekbare bacteriën in de cavia kwamen. Populaties met behoorlijke groei op voedingsbodems, waarbij de eerste caviae weinig afwijkingen vertoonden, werden zowel door GIERHAKÉ (1954) als FREERKSEN (1956) en MEISSNER (1956a) waargenomen bij onderzoek

van sputum en resectiemateriaal van patiënten, die onder behandeling waren of geweest waren met INH, zonder dat de bacteriën hiertegen resistent waren geworden. Deze auteurs zagen bij een indirecte virulentieproef dan wel de virulentie terugkeren, al meende MEISSNER bij een tiental gevoelige populaties toch een blijvende virulentievermindering te zien. Onze 3 populaties, die naast matige kweekgroei weinig afwijkingen in de cavia gaven, bleken bij de er op volgende virulentiebepaling normaal virulent te zijn. In ons materiaal werd dus bij gevoelige populaties geen blijvende virulentie-afname waargenomen.

Katalasegehalte.

Bij 57 populaties, bestaande uit gevoelige bacteriën, werd de katalaseproef verricht op de buis, zoals aangegeven door MIDDLEBROOK (1954). Bij 53 populaties was deze positief, bij 4 sterk verlaagd of negatief. Bij deze 4 populaties was er één, waarbij de direct ingezette cavia zeer weinig afwijkingen vertoonde, één, waarbij deze negatief was, en één met veel afwijkingen. Als uitkomsten van anderen, maar dan bij bacteriën uit sputum gekweekt, kunnen worden genoemd 460 gevoelige populaties, waarbij RIST e.a. (1956a) in 98 % een normaal katalasegehalte en in 2 % een gering gehalte vonden, en 102 gevoelige populaties, die MEISSNER (1956b) onderzocht en waarbij in slechts 1 geval het gehalte zeer laag was.

§ 2. POPULATIES MET RESISTENTE BACTERIËN.

Er werden 23 populaties geïsoleerd, die resistentie vertoonden tegen één of meer der middelen Sm, PAS en INH. In tabel 37 is een overzicht gegeven van deze populaties afzonderlijk: in hoeverre ze uit meer dan één laesie in een gereseceerd longdeel stamden, uit welk soort laesie, hoe de voorbehandeling was en de gevoeligheid van bacteriën, die voor de operatie uit sputum werden gekweekt. Uit de vierde kolom blijkt de totale duur, waarin deze middelen zowel tijdens voorafgaande kuren, als tijdens de laatste kuur werden gegeven. Bij vroegere kuren werden ze vrij vaak afzonderlijk toegevend, in de laatste kuur steeds in combinatie, niet alleen met elkaar, maar in enige gevallen ook met middelen als pyrazinamide, viomy-

rangnummer resectie- preparaat	aard laesie	pos. graad laesie*	totale duur van behandeling met			gevoeligheid in het sputum, bepaald voor begin laatste kuur**	
			Sm	PAS	INH		
101	kaashaard	A	2	7½	3½	—	
50	gemengde haard	B	—	5	2	—	
3	gemengde haard	C	1	4	3	—	
27	kaashaard	C	3½	9	7	0; 1; 0,1.....	
53	gemengde haard	B	7	11	6	—	
229	volgel. caverne	B	4½	8	5½	—	
206	caverne	C	3½	—	10½	30; 0; 0,3.....	
11a	caverne	D	7	5	6	1; 0; 0	
15	caverne	D	8	4	10	10; 10; 30.....	
40	gemengde haard	D	2½	8	7½	—	
130a	caverne	D	13½	17½	15	1; 100; 0,3	
100	kaashaard	A	8½	9	7½	—	
65	kaashaard	B	7	11	9	—	1; 0
75	kaashaard	C	14	17	13½	10; 1; —.....	
75	caverne	C	14	17	13½	10; 1; —.....	
137	kaashaard	C	6	14½	8½	—	
137	caverne	D	6	14½	8½	—	
137	kaashaard	D	6	14½	8½	—	
137	kaashaard	D	6	14½	8½	—	
41	caverne	D	> 6	> 12	> 9	1; 1; 100.....	
41	kaashaard	D	> 6	> 12	> 9	1; 1; 100.....	
106	caverne	D	11½	16	13	10; 10; 0,3.....	
143	caverne	D	7	14	12	—	

TABEL 37. AARD VAN DE LAESIE, MATE VAN KWEEKPOSITIVITEIT, BEHANDELINGSDUUR EN SPUTUM
Type of lesion, degree of positivity, duration of chemotherapy and resistance of sputum bacilli in 23

* A: alleen cavia positief. B: minder dan 10 kol. gegroeid. C: 10—200 kol. gegroeid. D:
 ** 0; 1; 0,1 betekent: bij Sm groei t/m 0γ, bij PAS groei t/m 1γ, bij INH groei t/m 0,1

Onderstreping van een cijfer geeft aan, dat de uitkomst van de bepaling wijst op aanwezigheid
 De niet omlijnde uitkomsten van de resistentiebepalingen zijn van sputumbacteriën in de betr
 Geheel vooraan de tabel staat het nummer van het resectiepreparaat. Hieraan is ook te zien ho

Behandelingsduur van de laatste kuur in maanden

	4—6½	7—9½	10—12½	13—18
w; 0				
); 30				
1; 0; 100				
→ [1; 0,3; 30				
; 0,1		[1; 0; 30		
		[1; 0; 30		
		10; 0; 0,3]		
		1; 0; 1]		
		→ [1; 1; 1]		
1; 0; 30		1; 0; 30]		
		10; 10; 0,3]		
			[10; 0; 0	
			1; 1 zw; 0]	
			10; 1; 30]	
			10; 1; 30]	
1; 1; 1	10; 1; 1		[100; 10; 1	
1; 1; 1	10; 1; 1		[100; 10; 1	
1; 1; 1	10; 1; 1		[100; 10; 1	
1; 1; 1	10; 1; 1		[30; 10; 1	
			10; 30; 100	
			10; 30; 100	
10; 10; 1			10; 1; 1]	
				10; 10; 30 → [10; 10; 30

17 23 LAESIES MET RESISTENTE BACTERIËN

which resistant bacilli were isolated

10 kol. gegroeid.

ntie der bacteriën tegen het onderhavige medicament.

ndelingsmaand. De omliggende uitkomsten zijn die van de bacteriën in de geresceerde laesie.
in een preparaat positief waren.

cine, tetracycline en cycloserine. Ook kregen enkele patiënten INH in een dosering van 6 mg of het preparaat nupasal.

Uit de tabel blijkt, dat 7 patiënten bij het begin van de laatste kuur al een resistente sputumflora hadden, bij 5 anderen werd tijdens de laatste kuur voor het eerst resistentie der bacteriën in het sputum aangetoond. Eén patiënt was aan het begin van de kuur positief met gevoelige bacteriën. Tenslotte waren er 5 patiënten, bij wie geen resistentiebepalingen met bacteriën uit het sputum waren verricht, omdat ze tijdens de laatste opname negatieve kweken hadden. Twee hiervan (geval 50 en 3) hadden slechts resp. 2 en 3 maanden INH gehad, waartegen de bacteriën in het resectiepreparaat resistent bleken te zijn.

Geval 27 en 53 hadden een lichte resistentie tegen INH van de sputumflora vertoond, terwijl de bacteriën in het resectiepreparaat tegen 30 γ resistent waren. Beide gevallen hadden in de tussenliggende maanden steeds INH gebruikt, in combinatie met PAS of Sm. In geval 130a leek er toename van de resistentie tegen Sm te zijn ontstaan tijdens de laatste 7 maanden behandeling. Gedurende deze hele periode had de patiënt Sm gebruikt, gecombineerd met INH, PAS en deels ook pyrazinamide. Ook in geval 137, waar in de laatste 6 maanden van de behandeling Sm-resistentie was ontstaan, en PAS-resistentie leek te zijn toegenomen, was in deze 6 maanden Sm en PAS toegediend, deels gecombineerd met pyrazinamide.

De gereseceerde caveerne van geval 15 leek minder sterk resistente bacteriën te bevatten dan het sputum voor de laatste 8 behandelingsmaanden, hoewel in deze periode de patiënt vrijwel steeds Sm en INH had gebruikt.

Uit onze gevallen blijkt dus, dat resistente bacteriën in longlaesies aanwezig kunnen zijn, terwijl het sputum geruime tijd negatief is geweest en hierin ook te voren geen resistentie is aangetoond; en dat, nadat geringe resistentie in het sputum was aangetoond, dit negatief kan worden, terwijl een longlaesie toch sterk resistente bacteriën bevat. Het omgekeerde namen wij niet waar: bij geen enkel geval, waarvan preoperatief een resistente sputumflora bekend was, werd een populatie in een laesie gevonden met geheel of grotendeels gevoelige bacteriën.

Ook kwam geen verschil in resistentie voor, wanneer meer dan één laesie uit een geresecceerd longdeel positief was. Dit laatste werd wel gezien door BOJALIL e.a. (1957), die patiënten met meest caverneuze longtuberculose na 4—8 maanden behandeling met Sm en INH opereerde, en ook door TURNBULL e.a. (1956) en CANETTI (1954); deze laatste wees er op, dat het zelden voorkomt bij continu, gedurende langere tijd, met combinaties van antibiotica behandelde patiënten.

Dat bij patiënten, die geen bacteriën meer uitscheidde, in de longlaesies toch resistentie tegen de gebruikte antibiotica kan zijn ontstaan, hebben ook andere onderzoekers gevonden: GERNEZ-RIEUX (1954) in een geval, waar het sputum vroeger gevoelige bacteriën bevatte en de laesie bacteriën inhield, resistent tegen 5 γ INH, STEWART (1956) bij 3 patiënten, die tevoren een gevoelige sputumflora hadden en bij 2, die steeds negatief waren; BOJALIL (1957) bij een geval met negatief sputum en BELL (1956) bij 11 van 59 patiënten met cavernes, die al geruime tijd negatief waren.

Uit de bevindingen van ons zelf en van anderen blijkt dus, dat in de longlaesies bacteriën aanwezig kunnen zijn van een andere gevoeligheid dan die van een sputumpopulatie, die tevoren werd uitgescheiden.

Sm	PAS	INH	Sm+PAS	Sm+INH	PAS+INH	Sm+PAS+INH
1	2	6	—	1	2	11
resistentie tegen Sm:			13			
resistentie tegen PAS:			15			
resistentie tegen INH:			20			

TABEL 38. RESISTENTIE TEGEN SM, PAS EN INH IN 23 POPULATIES MET RESISTENTE BACTERIËN

Resistance to Sm, PAS and INH in 23 strains with resistant bacilli

Resistentie tegen PAS.

Zoals uit tabel 37 en 38 blijkt, werd in 15 bacteriepopulaties resistentie tegen PAS waargenomen; deze was in 3 gevallen slechts laag: groei op de 0,3 γ buis of op de 0,3 γ buis met zwakke groei op de 1 γ buis. Voor zover de populaties via caviapassages voortgekweekt werden, bleek de PAS-resistentie onveranderd te blijven.

Van de beide gevallen met alleen PAS-resistentie volgen hier enkele gegevens:

De ene populatie was afkomstig uit een strooihaard van een vers caverneus proces bij een jongeman (geval 65, tabel 37), die vlak voor de sanatoriumopname thuis 1 maand lang behandeld was met alleen PAS. In het sanatorium kreeg hij gedurende 10 maanden combinaties van PAS, INH en Sm. Een in de tweede behandelingsmaand geconstateerde resistentie van uit het sputum gekweekte bacteriën tegen 0,3 γ PAS werd ook gevonden bij bacteriën uit de enige positieve strooihaard, waaruit 1 kolonie bacteriën groeide. Alle andere haarden waren negatief. De populatie was katalase-positief, virulent voor de cavia, de PAS-resistentie onveranderd na één dierpassage.

De andere populatie groeide uit een weke kaashaard in een schrompelend bovenkwabsproces bij een man van 42 jaar, (geval 101, tabel 37) die in 1941 beiderzijds pleuritis had gehad en bij recidiverende longafwijkingen in later jaren in totaal 6 maanden alleen PAS had gebruikt. Bij een nieuw recidief in 1955 werd hij 3,5 maand lang met combinaties van PAS, Sm en INH behandeld, zodat hij in totaal 7,5 maand PAS had gehad voor de operatie. Er groeiden bacteriën uit de pus op de injectieplaats van de met de weke kaas geënte cavia. Deze bacteriën waren resistent tegen 1 γ PAS. De populatie was virulent voor de cavia, katalase-positief en na één dierpassage nog even sterk PAS-resistent.

Resistentie tegen Sm.

Resistentie tegen Sm werd 13 keer waargenomen, waarvan 1 keer geïsoleerd.

Deze populatie kwam van een meisje (geval 100, tabel 37), dat in 1943 reeds dubbelzijdige pleuritis had doorgemaakt, daarna in 1947 en 1949 gekuurd had met longafwijkingen, waarvoor ze niet met antibiotica werd behandeld. Bij een nieuw recidief in 1955 werd ze eerst thuis 4 maanden lang met Sm en PAS samen behandeld, daarna in het sanatorium gedurende 8 maanden met combinaties van PAS, INH en Sm, zodat ze in totaal 8,5 maand Sm kreeg, steeds in een dosering van 2×1 , 3×1 of $3 \times 0,5$ gram per week. Het sputum was steeds negatief. Een met materiaal uit een week klein kaashaardje

ingezette cavia leverde een positieve miltkweek. Deze bacteriën waren resistent tegen Sm: groei op 10 γ positief, op 30 en 100 γ zwak positief. De katalaseproef was positief, de bacteriën virulent voor de cavia. Bij de kwantitatieve bepaling bleek de groei op de controle en 1 γ bodem even sterk te zijn, op de 10 γ bodem groeide $\pm 25\%$ van de bacteriën. Na 1 caviapassage leek de resistentie onveranderd.

Tegen INH resistente bacteriepopulaties.

Daar tegen INH resistente bacteriën naast hun resistentie enkele bijzondere eigenschappen vertonen, wordt hiervan een korte uiteenzetting gegeven, voordat de uitkomsten van het eigen onderzoek worden vermeld.

Het is nodig onderscheid te maken tussen populaties, die geheel uit sterk resistente bacteriën bestaan — deze kunnen worden verkregen door enige overentingen op voedingsbodems met een bepaalde concentratie aan INH, b.v. 10 γ — en populaties, die van patiënten afkomstig zijn en waarvan de samenstelling niet bekend is. Zo bestreden STEENKEN (1953), PEIZER (1953) en BLOCH (1953) eerst het regelmatig optreden van virulentie-afname voor de cavia van sterk resistente populaties. Door STEWART (1954) en MITCHISON (1954) werd er op gewezen, dat hun afwijkende uitkomsten veroorzaakt werden doordat zij in plaats van geheel resistent gemaakte populaties populaties uit sputum van patiënten hadden onderzocht, die bestonden uit gevoelige naast resistente bacteriën. Het blijkt uit talrijke onderzoeken, b.v. van BARNETT (1953), BARRY (1953) en MEISSNER (1956), dat populaties, die in hun geheel resistent zijn tegen minstens 10 γ INH, vrijwel steeds een sterk verminderde virulentie voor de cavia hebben, al is deze virulentievermindering niet steeds even sterk en is deze duidelijk minder uitgesproken dan die van het B.C.G. (RIST 1956b). Deze virulentievermindering komt in de cavia zo tot uiting, dat de bacteriën zich hierin eerst wel vermeerderen en verspreiden en ook laesies in de organen veroorzaken, maar dat na 6 tot 8 weken de bacteriën afsterven en de histologische afwijkingen teruggaan. Na 3 maanden zijn daardoor vaak nog slechts lokaal (op de injectieplaats en in de regionale klieren) afwijkingen te zien en bacteriën te kweken. (MEISSNER, 1956c, VINK e.a. 1956). Deze INH-

resistentie met de ermee gepaard gaande virulentie-vermindering kan zich in vele dierpasages of overentingen handhaven (MANTEN, 1956). Voor INH resistente tuberkelbacteriën hebben afwijkingen in verschillende van hun enzymsystemen, in vergelijking met gevoelige bacteriën. Zo bestaat er o.a. bij sterk resistente bacteriën een sterke afname van het katalasegehalte, waardoor de bacteriën niet in staat zijn waterstofperoxyde te splitsen. (MIDDLEBROOK 1954, MEISSNER 1956c, KREIS 1958). Bij geringe graden van resistentie (tegen 1 γ en lager) is niet steeds een zo duidelijke virulentie-afname aanwezig, noch een sterk afgenomen katalasegehalte en gaan deze twee eigenschappen ook niet steeds gepaard. Toch komt bij slechts tegen 0,1 γ resistente bacteriën vrij vaak een duidelijke virulentie-afname voor en ook een afname van het katalasegehalte. Daarnaast zijn er zwak resistente populaties met een normaal katalasegehalte, die vrijwel normaal virulent zijn. (MIDDLEBROOK 1954, RIST 1956b).

Populaties, afkomstig van met INH behandelde patiënten, zijn, zo ze resistentie vertonen, vaak niet in hun geheel resistent tegen INH, maar bevatten ook kleinere of grotere aantallen bacteriën, die gevoelig voor INH zijn en daarbij virulent, of die zwak resistent en vrijwel geheel virulent zijn. Een bijmenging van minimaal ongeveer 20 % aan normaal gevoelige of zwak resistente bacteriën in een populatie kan worden vermoed met een kwantitatieve resistentiebepaling, of wanneer de katalasetest op de controlebuis van de resistentiebepaling aanzienlijk meer positief is dan op de INH bevattende buizen. Een kleiner percentage kan in de cavia worden aangetoond. MEISSNER (1956c) en WIDELock (1955) toonden aan, dat reeds 2 tot 5 % aan gevoelige, virulente bacteriën in een kunstmatig gemengde populatie laesies in caviae kunnen veroorzaken even sterk als wanneer met virulente bacteriën geënt was. Dit komt, doordat terwijl de resistente bacteriën afsterven, de gevoelige zich verder ontwikkelen en de overhand krijgen. Terwijl dan in de aangetaste organen gevoelige bacteriën aangetroffen worden, kunnen uit de injectieplaats en de regionale klieren vaak nog resistente bacteriën worden gekweekt. Als nog minder virulente bacteriën in een populatie aanwezig zijn, zijn ze soms na drie maanden nog niet aan te tonen, maar pas na ongeveer 8 maanden (RIST 1956a). Bovendien

kan hun ontwikkeling dan worden geremd door de immunisering, die de caviae hebben ondergaan door de infectie met de verzwakt virulente resistente bacteriën, die de meerderheid van de populatie vormden (RIST 1956b). Wanneer pas na een verblijf van vele maanden in de cavia of — zoals door ons is toegepast — in de hamster gevoelige bacteriën kunnen worden aangetoond, bestaat misschien ook de mogelijkheid dat deze bacteriën niet al in zeer kleine aantallen in de ingespoten populatie aanwezig waren, maar dat zij zich in het proefdier hebben ontwikkeld door mutatie. Dezelfde onzekerheid bestaat, wanneer zij pas na een aantal dierp passages weer worden aangetoond. Zo vond MEISSNER (1956a) terugkeer van de virulentie en tevens van gevoeligheid voor INH bij enkele tegen INH resistente populaties uit sputum pas na 8 tot 12 passages in caviae. Zij vond deze terugkeer tot virulentie ook in de 11e resp. 12e passage bij 2 van 4 populaties, die elk afkomstig waren van enkele, apart voortgekweekte kolonies van resistente bacteriën uit sputa. Welke van beide verklaringen ook de juiste is, in elk geval blijkt er uit, dat op het geheel resistent en verzwakt virulent zijn en blijven van schijnbaar homogene populaties niet kan worden vertrouwd. Dit geldt ook voor bacteriepopulaties in longafwijkingen bij de mens.

Uit tabel 38 bleek, dat de bacteriën uit 20 longlaesies resistentie tegen INH vertoonden, 6 keer tegen INH alleen, 14 keer ook tegen PAS of Sm. Uit tabel 39 blijkt, dat enerzijds tegen hoge INH-concentraties

Totale behandelingsduur met INH, in maanden	Buis met hoogste INH-concentratie, welke nog groei vertoonde				
	0,1 γ	0,3 γ	1 γ	10 γ of hoger	totaal
0—3½				2	2
4—6½			1	2	3
7—9½			4	2	6
10—12½		1	1	3	5
13—18		1	1	2	4
Totaal		2	7	11	20

TABEL 39. HOOGTE VAN DE RESISTENTIE EN DUUR VAN DE BEHANDELING MET INH

Degree of INH-resistance in relation to the duration of treatment with INH

resistente bacteriën voorkwamen in longlaesies van patiënten, die korter dan 4 maanden met combinaties van antibiotica, waarin INH voorkwam, waren behandeld en anderzijds, dat een lage graad van resistentie kon bestaan, ook wanneer patiënten langer dan 10 maanden met dit middel waren behandeld. In deze tabellen is de behandeling met INH in deze kuur en in eventuele vorige samengeteld. Bij vroegere kuren, zoals vooral bij de lang behandelenden voorkwam, was soms INH afzonderlijk gegeven. De patiënten kregen het INH gewoonlijk in een dosis van 4 mgr. per kg lichaamsgewicht, soms 6 mg., maar geen hoge dosis, zoals MIDDLEBROOK en COHN (1954) nodig achten ter voorkoming van het optreden van laag resistente, katalase-positieve bacteriën.

Totale behandelings- duur met INH, in maanden	aant.	virulentie bepaald bij	Gr. III of IV	Gr. O, I, II	katalaseproef
0—3½	2	1	1		positief
4—6½	3	2		2	zwak positief of negatief
7—9½	6	5		5	
10—12½	5	2		2	
13—18	4	4		4	
Totaal	20	14	1	13	

TABEL 40. KATALASEGEHALTE EN VIRULENTIE VAN TEGEN INH RESISTENTE POPULATIES BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGSDUUR

Catalase test and virulence of INH-resistant strains in relation to the duration of treatment with INH

In tabel 40 is de uitslag van de katalaseproef en van de virulentiebepaling in de cavia, zoals die verricht zijn met de uit de longafwijkingen gekweekte bacteriepopulaties, weergegeven. Het bleek, dat alleen de 2 korter dan 4 maanden behandelde populaties, die zoals in tabel 39 te zien valt, beide tegen 30 γ INH resistent waren, een positieve katalasetest hadden. Bij de ene bleek de buis met 0 γ positief, en die met hogere concentraties negatief, waaruit wel zeer waarschijnlijk is, dat de populatie gemengd was; ook de andere (geval 50, zie tabel 37) bleek zowel gevoelige bacteriën met positieve katalase, als resistente met negatieve katalase te bevatten.

Alle langer behandelenden hadden een zeer zwak positieve of negatieve

katalasetest. Dit betekende, dat ze weinig katalase-positieve bacteriën bevatten, hetzij dit geheel gevoelige of zwak resistente bacteriën waren. De door ons gebruikte methode — voor de meeste populaties de proef op de buis volgens MIDDLEBROOK (1954), voor enkele op het objectglas volgens MEISSNER — is kwantitatief echter niet nauwkeurig. Voor zover van deze populaties met negatieve of zwak positieve katalaseproef virulentiebepalingen werden verricht, toonden deze een afgenomen virulentie voor de cavia.

Bij deze 14 populaties is ook gepoogd vast te stellen, in hoeverre ze alleen uit resistente bacteriën met een negatieve katalase en afgenomen caviavirulentie bestonden en in hoeverre er ook gevoelige, katalase-positieve bacteriën of zwak resistente katalase-positieve en tevens virulente bacteriën in voorkwamen. Daartoe is gebruik gemaakt van:

- a. kwantitatieve resistentiebepalingen;
- b. voortgezette caviapassages, waarbij de uit de caviaorganen gekweekte bacteriën telkens op hun resistentie en katalasegehalte werden onderzocht;
- c. het inzetten van hamsters (zie hoofdstuk II), die niet zoals de caviae na 3 maanden werden onderzocht, maar, tenzij ze eerder succombeerden, pas na 8 maanden. Ook van de hieruit gekweekte bacteriën werden resistentie- en katalasebepalingen gedaan.

De volgende mogelijkheden bleken zich hierbij voor te doen:

- I. de gemengde samenstelling van de populatie bleek reeds bij de eerste resistentie- en katalasebepaling: 2 populaties (geval 50 en geval 3);
- II. gevoelige, virulente bacteriën werden gevonden bij verdere dierpassages:

A. na caviapassages: 1 populatie (geval 40),

B. niet door caviapassages, wel door hamsterpassages: 5 populaties (geval 106, 130a, 143, 206, 229).

- III. er werden geen voor INH gevoelige en virulente bacteriën meer gekweekt: 6 populaties (geval 27, 53, 75 — 2 keer —, geval 137 — 2 keer —).

Van elke groep worden voorbeelden gegeven op de hiervolgende pagina's. Het onderzoek van deze populaties kon niet steeds regelmatig worden voortgezet, daar enkele populaties vrij slecht groeiden, wat vooral bij kwantitatieve bepalingen soms tot onvoldoende uit-

komsten leidde. Ook was het bij deze populaties vrij vaak onmogelijk bacteriën terug te kweken uit de caviae en soms uit de hamsters, hetgeen samenhang met hun vrij sterke virulentie-afname.

Legenda bij de schema's van de onderzochte populaties.

Löw.: kweek op Löwensteinbodem.

res.: resistentiebepaling ten opzichte van INH. Het aangegeven getal is de buis met de hoogste concentratie, waarop nog aanzienlijke groei voorkwam (zie hoofdstuk II).

kat.: Katalaseproef. Deze kan zijn — : negatief; + : positief; zw. + : zwak positief.

qu.: kwantitatieve resistentiebepaling; hierachter staat vermeld hoeveel procent groei nog optrad op de buis met de hoogste INH-concentratie, waarop nog groei voorkwam, in vergelijking met het aantal kolonies op de controlebuizen.

Cavia: hierbij betekent M: Mantoux-reactie (zie hoofdstuk II)

„ „ Gr.: de groepsindeling naar de uitgebreidheid van de afwijkingen (zie hoofdstuk II).

Indien niet anders vermeld werd, zijn caviae en hamsters ingezet met de populatie, zoals die groeide op de buis zonder INH.

Indien vermeld is: 0. of 10 of 30 γ buis, is van deze buis van de resistentiebepaling materiaal genomen voor de enting.

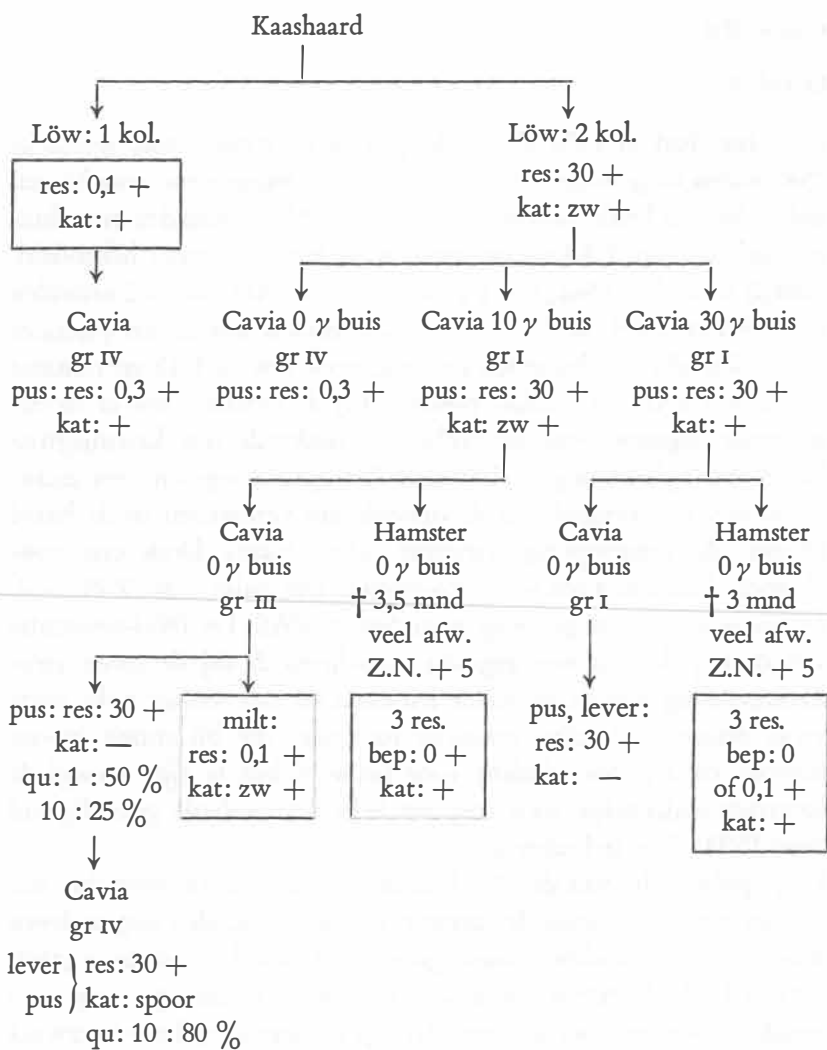
Hamster: Veel afwijkingen of geen afwijkingen (g.a.) bij macroscopisch onderzoek. Bij de hamsters is aangegeven hoe groot de bacteriedichtheid in de uitstrijkpreparaten van de organen was en na hoeveel tijd ze succombeerden. (†). Anders vond obductie plaats na 8 maanden.

Groep I.

Geval 50.

♂, 23 jaar, kuurde voor opname thuis, met gedurende 3 maanden PAS, kreeg in het sanatorium 2 maanden PAS + INH; de sputumkweken waren negatief, röntgenologisch waren er 4 tot kersgrote, wat kalk bevattende haarden in het verkleinde apicale rechter onderkwabssegment. In het resectiepreparaat werden enkele ten dele krijtige en kalkige, ten dele hard-elastische haarden gevonden. Uit 1 haard van ± 2 cm, met randstandige taaie kaas (Z.N. + 3) en centraal een weker deel (Z.N. + 5) werden uit het randstandige gebied 3 kolonies gekweekt, op 1 buis 1 kolonie, op een andere 2 kolonies. De bacteriën waren gevoelig voor Sm en PAS. Van de beide buizen werden afzonderlijke resistentiebepalingen verricht, waarbij het volgende bleek: (zie schema 1). De bacteriën van de buis met 1 kolonie groeiden bij 0,1 γ INH, de met deze populatie ingezette cavia vertoonde veel afwijkingen, de hieruit gekweekte bacteriën waren van dezelfde resistentiegraad en katalasepositief.

De andere buis toonde een resistentie tot 30 γ , met zwak positieve katalase. Van de 0 γ , de 10 γ en de 30 γ buis van de resistentiebepaling werden caviae ingezet. Die van de 0 γ buis kreeg veel afwijkingen, uit de pus groeiden nog bacteriën, resistent tegen 30 γ . Het materiaal uit deze cavia is niet verder onderzocht. De cavia, geënt met de bacteriën op de 1 γ buis gegroeid, had weinig afwijkingen; uit de pus kwamen zwak katalase-positieve bacteriën, resistent tegen 30 γ INH; bij de hiermee geënte cavia en hamster kwamen weer gevoelige katalase-positieve bacteriën uit de caviamilt en alle hamsterorganen. Bij de met de op de 30 γ buis gegroeide bacteriën was het verloop overeenkomstig; alleen kwamen hier uit de cavia nog katalase-negatieve resistente bacteriën, terwijl alleen uit de hamsterorganen gevoelige, katalase-positieve bacteriën werden gekweekt. Ook de bacteriën van deze tweede buis bevatten dus een gevoelig katalase-positief aandeel; dit bleek uit de zwak positieve katalase van de controlebuis bij de eerste resistentiebepaling — wat zeldzaam is bij geheel tegen 30 γ resistente bacteriën —, uit de sterk positieve cavia, ingezet met de bacteriën van de 0 γ buis en uit de gevoelige bacteriën die uit de in 2e



SCHEMA 1.

Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

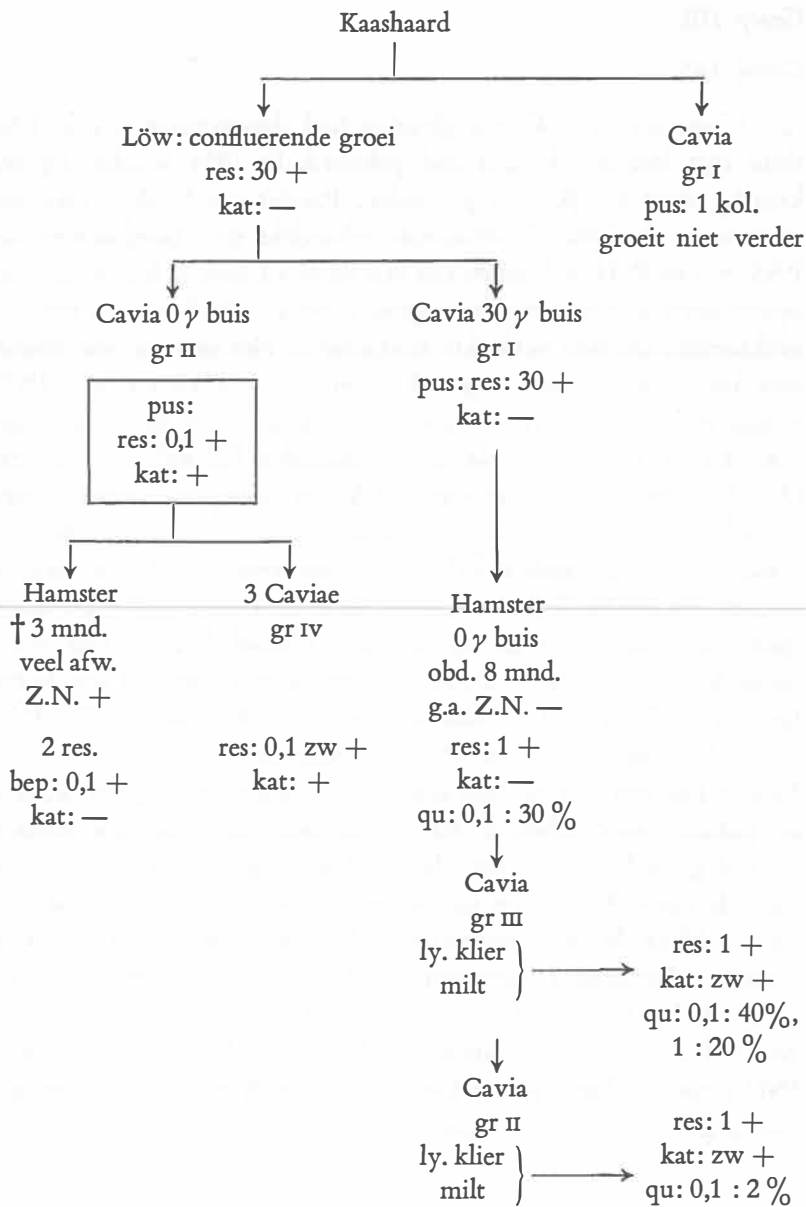
passage ingezette cavia en hamsters werden gekweekt. Dat deze bacteriën aanwezig konden blijven bij 1 pasage over de voedingsbodems met 10 γ en 30 γ INH, is bekend: gevoelige, daarop geënte bacteriën, die toevallig in een niet zich delende fase verkeren, kunnen zo'n passage overleven.

Groep IIA

Geval 40.

♀, 37 jaar, had in 1932 al afwijkingen in de rechter top, welke in 1943 waren toegenomen. In 1954 had ze een haemoptoe, waarbij een uitbreiding in beide bovengebieden bleek. Na 3 maanden rust thuis met gebruik van PAS alleen, werd ze in het sanatorium behandeld, eerst $2\frac{1}{2}$ maand met Sm ($3 \times \frac{1}{2}$ g. per week) en INH, daarna 5 maanden met PAS en INH. In de vierde opnamemaand was er een positieve sputumkweek, met bacteriën gevoelig voor Sm en PAS en resistent tegen 30γ INH en katalase-positief. Bij de opname was er in het posterior segment van de rechter bovenkwab een kastanjegrote haar met opheldering en boven in het apicale segment een dichte afwijking. Preoperatief was de opheldering verdwenen en de haar kleiner, de topafwijking stationair. Deze laatste bleek een vast-elastische haar met een weker centrum te zijn, ruim 2 cm, Z.N. + 4. De bacteriën waren gevoelig voor Sm en PAS. De INH-resistentie van de populatie is weergegeven op schema 2. Bij de eerste virulentiebepaling met de populatie kwamen uit een weinig zieke cavia zwak resistente, katalase-positieve bacteriën, die bij enting in een hamster en 3 caviae virulent voor beide bleken te zijn, terwijl de bacteriën gedeeltelijk toch nog een licht verminderde gevoeligheid voor INH leken te bezitten.

De populatie, die van de 30γ buis in een cavia werd gebracht, was minder pathogeen voor de hamster, die na 8 maanden nog in leven was en waaruit slechts schaarse groei op de kweken uit de organen ontstond; de bacteriën leken ook in 2 verdere passages nog verminderd virulent voor de cavia, terwijl het katalasegehalte verzwakt bleef en een gedeeltelijke resistentie bleef bestaan.



SCHEMA 2.

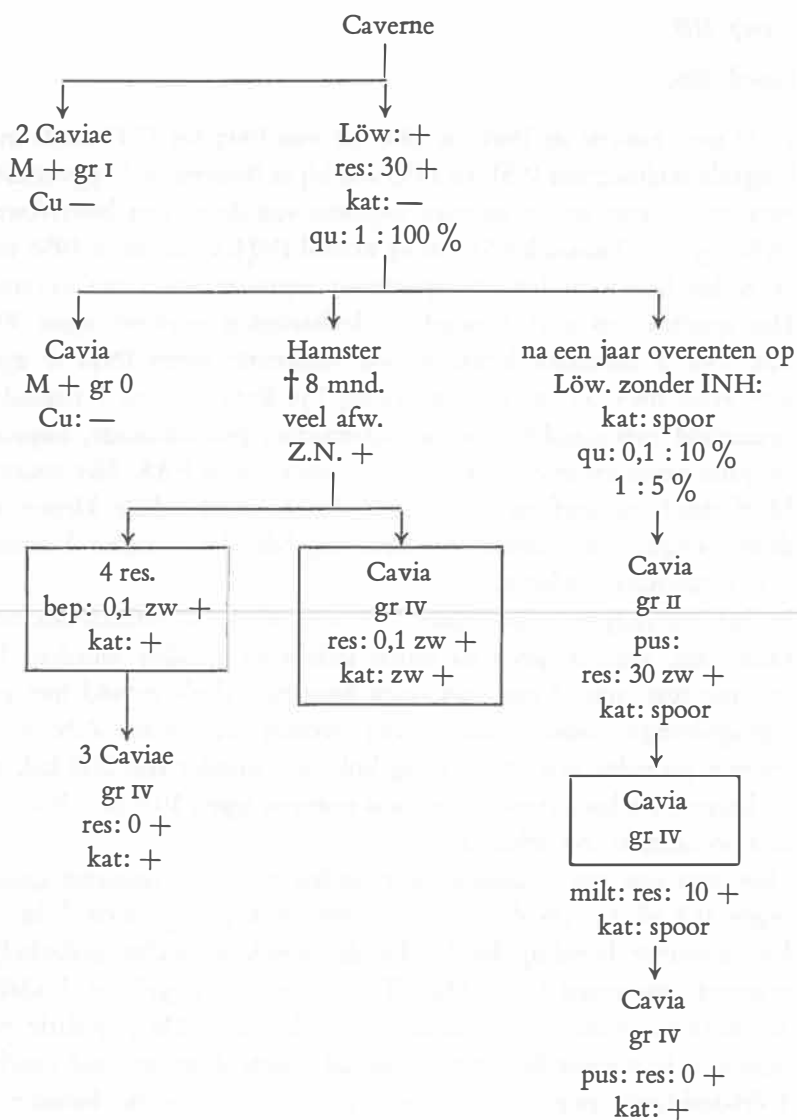
Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

Groep IIB.

Geval 143.

♂, 39 jaar, die in 1942 een pleuritis had doorgemaakt en in 1947 thuis met longafwijkingen had gekuurd. In 1955 werden bij een keuring weer afwijkingen gevonden. Patiënt werd elders voor een caverne in de linker bovenkwab behandeld met combinaties van PAS, Sm en INH gedurende een jaar en werd toen in het sanatorium opgenomen met nog een boongrote caverne temidden van ten dele verkazende, ten dele verkalkte afwijkingen. Het sputum was positief met bacteriën, resistent tegen 10 γ Sm, 10 γ PAS en 30 γ INH, negatieve katalase en een verzwakte virulentie voor de cavia (Mant. pos., Gr. 0, Cu. neg.). Na nog 4 maanden behandeling met Sm ($3 \times \frac{1}{2}$ gr. per week), intraveneus PAS en viomycine, werd resectie verricht; er werd een cavernetje van ongeveer 1 cm doorsnee gevonden, met een gladde wand, waarop een weinig week materiaal, en waarin een brokje kalk, de toevoerende bronchus was ruim door-gankelijk. Het materiaal op de cavernewand bevatte een matig aantal bacteriën (Z.N. + 3); op de Löw. buizen ontstond een dichte, fijne groei. De populatie was resistent voor 30 γ Sm en 30 γ PAS. Voor de resistentie tegen INH zie schema 3.

Hier had de met de populatie ingezette cavia zeer weinig afwijkingen, de hamster succombeerde na 8 maanden met veel afwijkingen, vrijwel gevoelige bacteriën, die katalase-positief waren en virulent voor de cavia. De na een jaar overenten weer in caviae geënte populatie bleek bij de kwantitatieve bepaling een geringer aandeel resistentie bacteriën te bevatten dan de meteen na isolatie gebruikte (5 % op 1 γ tegen 100 % op 1 γ direct na isolatie), na 1 passage waren deze virulent voor de cavia, al bleven ook nog uit de organen INH-resistente bacteriën te kweken; na de 2e passage werden nog slechts gevoelige bacteriën gekweekt.



SCHEMA 3.

Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

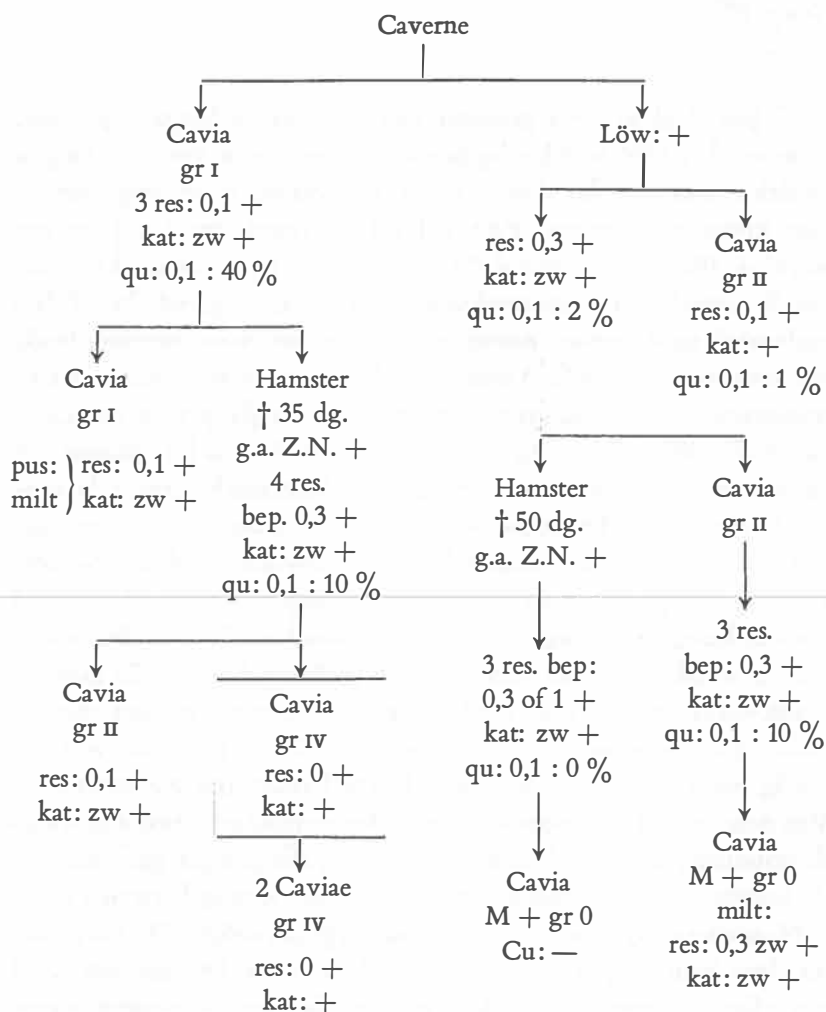
Groep IIB.

Geval 206.

♂, 37 jaar, kuurde in 1941, in 1943 en van 1945 tot 1947 reeds met longtuberculose; van 1951 tot 1953 was hij in Beatrixoord opgenomen met een caveerne in het anterior segment van de rechter bovenkwab en kreeg toen 3 maanden Sm en 6½ maand INH. In augustus 1956 was er rechts boven in het apicoposterior segment een verse caveerne. Het sputum was sterk positief en de bacteriën resistent tegen 30 γ Sm. Na 3 maanden bleek er ook resistentie tegen INH te zijn: nog groei bij 0,3 γ , zwakke groei bij 1 γ . Patiënt werd 7 maanden behandeld met combinaties van viomycine, pyrazinamide, nupasal, streptomycine en cycloserine en met intraveneus PAS. Het sputum bleef steeds positief en de caveerne bleef, werd echter kleiner en dunwandiger. De exsudatieve strooing, die bij opname bestond, was aanzienlijk verbeterd.

In het resectiepreparaat waren vrij veel kleine strooihaardjes met taaie kaas, waaruit geen bacteriën gekweekt konden worden. De caveerne was ruim 2 cm, met open bronchus, deels gevuld met een slijmig-kazige massa, waarin vrij weinig bacteriën (Z.N. + 2). Hieruit groeiden ook vrij weinig kolonies, minder dan 200 kol. op 12 buizen. De bacteriepopulatie was resistent tegen 10 γ Sm. Voor de INH-resistentie zie schema 4.

Hier was dus een populatie met slechts een lage resistentiegraad: tegen 0,3 of 1 γ op de gewone resistentiebepaling, terwijl bij de kwantitatieve bepaling bleek, dat de populatie slechts gedeeltelijk resistent was tegen 0,1 γ . Hierbij was het katalasegehalte duidelijk afgenomen, evenals de virulentie voor de cavia. De populatie was echter — in tegenstelling tot een aantal andere door ons onderzochte INH-resistente populaties — zeer pathogeen voor de hamster: 2 hamsters succombeerden in 5 en 7 weken. Uit de ene hamster werden slechts weer bacteriën met dezelfde lage resistentie, laag katalasegehalte, en geringe virulentie voor de cavia gekweekt; uit de andere kwamen bacteriën, die één van de beide ermee ingezette cavia sterk ziek maakten met bacteriën, die geheel gevoelig voor INH waren, sterk katalase-positief en normaal virulent voor de cavia. Het is na



SCHEMA 4.

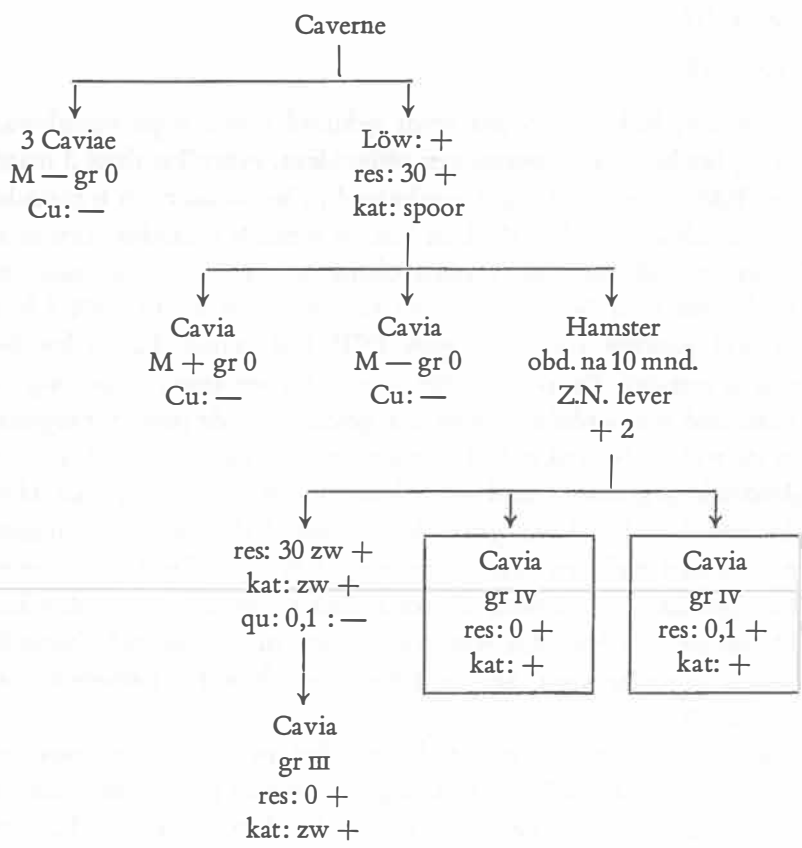
Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

zoveel overentingen — de virulente, gevoelige bacteriën kwamen pas voor den dag een jaar nadat de populatie uit de caverne gekweekt was — niet meer mogelijk vast te stellen of deze nu in de oorspronkelijke populatie al aanwezig waren, of door mutatie er uit zijn ontstaan.

Groep IIB.

Geval 229.

♂, 37 jaar, had in 1943 gekuurd met pleuritis en longafwijkingen. In november 1956 werden bij bevolkingsonderzoek longafwijkingen ontdekt, waarmee hij direct in het sanatorium werd opgenomen. Hier kreeg hij $4\frac{1}{2}$ maand PAS + INH, 1 maand Sm ($7 \times \frac{1}{2}$ gr. per week) + INH, en $3\frac{1}{2}$ maand PAS + Sm ($3 \times \frac{1}{2}$ gr. per week), totaal dus 9 maanden. De sputumkweek was steeds negatief, het Z.N.-onderzoek in de eerste maand en in de maand voor operatie beide één keer zwak positief; 3 weken na de resectie was er een positieve sputumkweek met bacteriën, die vrij veel afwijkingen in een cavia gaven (Gr. III) en gevoelig voor INH waren. Er was bij opname een exsudatief verkazend proces in de bronchiectatische linker bovenkwab, met een dichte schaduw, waarin vier maanden voor operatie een grote opheldering ontstond, die een caverne deed vermoeden. In het resectiepreparaat werd een caverne aangetroffen van $2 \times 3 \times 3$ cm met kazige wandlaag en vervloeide inhoud zonder open bronchus, met in wand en inhoud veel bacteriën (Z.N. + 5, + 3). 20 Löwensteinkweeken en 3 caviae werden met dit materiaal ingezet met als opbrengst 6 kolonies, op 1 buis gegroeid. Deze populatie was gevoelig voor Sm en PAS. Voor de INH-resistentie zie schema 5. Van deze op de Löwenstein- en Beeuwkesbodems eerst slecht groeiende populatie, welke in 3 caviae zeer weinig afwijkingen gaf, was ook de hamster na 10 maanden weinig aangetast: weinig bacteriën in de Z.N.-preparaten, spaarzaam gegroeide orgaankweeken. De bacteriën, uit deze hamster gekweekt, waren echter voor het grootste deel gevoelige of zwak resistente bacteriën, die katalase-positief waren en virulent voor de ermee geënte 2 caviae.



SCHEMA 5.

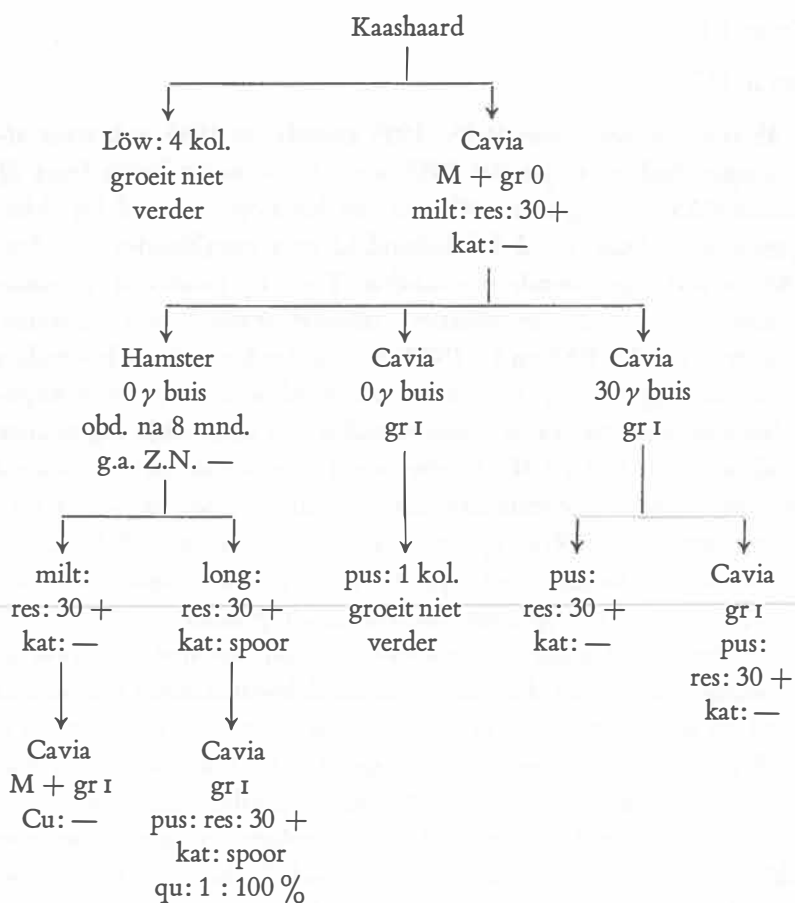
Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

Groep III.

Geval 53.

♀, 28 jaar, had voor 6 jaar reeds gekuurd met een pneumothorax, kreeg het jaar voor opname een uitbreiding, gebruikte thuis 3 maanden PAS + Sm en daaraan aansluitend in het sanatorium 6 maanden combinaties van PAS, INH en Sm, in totaal 9 maanden. Een in de eerste maand verrichte resistentiebepaling vertoonde normale gevoeligheid voor Sm en PAS, vrij veel groei op de 0,1 γ INH buis, hoewel patiënte toen nog geen INH had gehad. Latere kweken waren negatief. De röntgenfoto toonde bij opname een pruimgrote kaashaard met opheldering in het geschrompelde posterior segment in de rechter bovenkwab. Deze was preoperatief in een kleine, onduidelijk begrensde haarde veranderd. In het resectiepreparaat bleek dit een $1 \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$ cm grote haarde met dikke bindweefselkapsel, gevuld met weke en vastere kaas met Z.N. + 2. Op 1 Löwensteinbuis groeiden 4 kolonies, die zich verder niet lieten voortkweken. De uit de met hetzelfde materiaal geënte cavia groeiende bacteriën waren gevoelig voor Sm en PAS. Voor hun INH-resistentie zie schema 6.

Hier vertoonden dus zowel de met het necrotisch materiaal geënte cavia, als die in 2e en 3e passage slechts zeer geringe afwijkingen, terwijl de bacteriën, voor zover weer te kweken, resistent en katalase-negatief of zeer zwak positief bleven. De hamster leefde nog na 8 maanden en vertoonde geen macroscopische afwijkingen, negatieve Z.N.-preparaten, en zeer spaarzaam positieve orgaankweken.



SCHEMA 6.

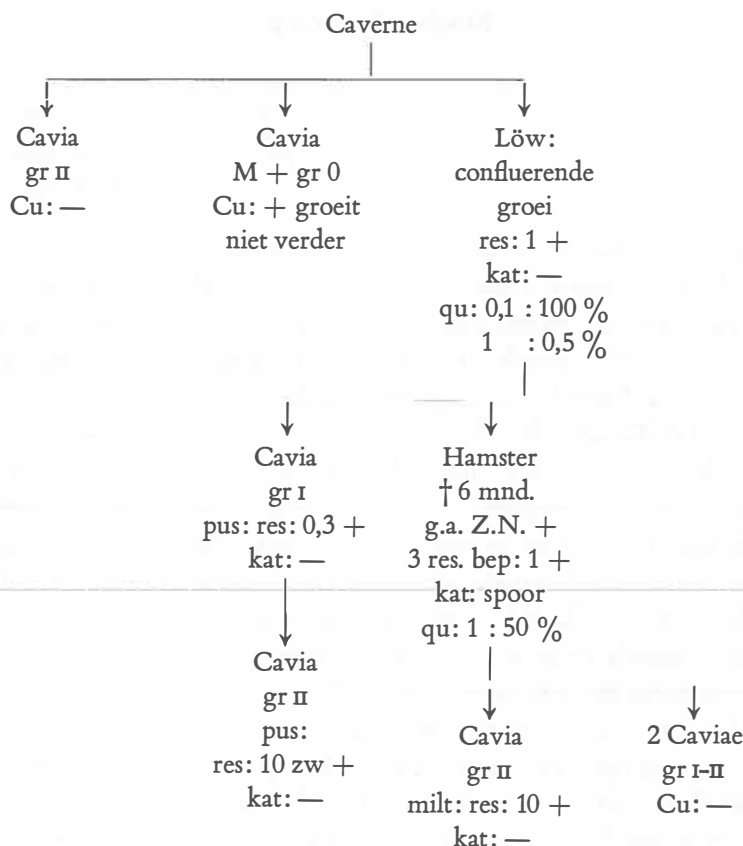
Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

Groep III.

Geval 137.

♂, 45 jaar, die reeds van 1933—1935 kuurde, in 1953 ook weer afwijkingen had en in januari 1955 weer thuis moest kuren (met 2½ maand PAS). In augustus 1955, na een haemoptoe, werd hij elders opgenomen. Daar werd hij behandeld met combinaties van Sm, PAS en INH, gedurende 6 maanden. Toen hij daarna in het sanatorium kwam, was het sputum cultureel positief met bacteriën, resistent tegen 1 γ PAS en 1 γ INH; 3 maanden later was er bovendien resistentie tegen 10 γ Sm. Virulentiebepalingen met sputumpopulaties uit deze tijd bij 6 caviae toonden een aanzienlijk afgenomen virulentie (Gr. 0, I en II). Patiënt werd nog 5 maanden behandeld met een wisselende combinatie van 3 medicamenten, te weten PAS intraveneus, Sm, INH, pyrazinamide en viomycine. Patiënt had de laatste 4 maanden vóór operatie geen positieve sputumkweken meer, wel was het sputum microscopisch positief: + 3.

In de sterk verkleinde bovenkwab was bij opname een caverne aanwezig, die tijdens deze laatste behandelingsmaanden iets kleiner werd. Er was in dit gebied in 1933 ook een caverne geweest, terwijl in 1953 de huidige caverne reeds bestond. Uit het resectiepreparaat werden bacteriën gekweekt uit 2 krijtige hardjes, een hardje met weke kaas en uit de caverne; deze was spleetvormig met een zeer dikke bindweefselige wand, een necrotisch beslag met kalkbrokjes en veel bacteriën (Z.N. + 5), en een open bronchus. Uit alle 3 haarden werd confluërende groei verkregen, terwijl de caviae Gr. I of II waren; de bacteriën waren resistent voor 100 γ Sm, 10 γ PAS, 1 γ INH en deels voor 10 γ INH; de katalaseproef was negatief. Een tweede caviapassage met de bacteriën uit deze 3 haarden toonde weer een virulentieafname (M. +, Gr. 0, Gr. I of Gr. II). Zie schema 7 voor het verloop van de INH-resistentie van de bacteriën uit de caverne. Hier werden dus met materiaal van de caverne geënte caviae zeer weinig aangetast; met de op de Löwenstein-kweek gegroeide populatie werden een cavia en een hamster ingezet. De cavia en ook de 2e cavia hadden weinig afwijkingen, terwijl de INH-resistentie en het katalasegehalte onveranderd bleef. De hamster succombeerde



SCHEMA 7.

Voor verklaring der afkortingen zie blz. 99.

na 6 maanden, herbergde toen vele bacteriën, die, naar uit de erop volgende bepalingen bleek, nog dezelfde resistentiegraad tegen INH, dezelfde virulentie-afname voor de cavia en een sterk afgenomen katalaseactiviteit hadden. Deze bacteriën met een lage resistentiegraad (0,1 γ INH) waren dus, zij het met een overlevingstijd van 6 maanden, virulent voor de hamster.

Slotbeschouwing

There is no way of predicting at present as far as I can see, whether drug therapy in a host is going to bring about negative bacteriology.

W. Steenken jr.

In de voorafgaande hoofdstukken werden de uitkomsten gegeven van bacteriologisch onderzoek van gereseceerde longafwijkingen van patiënten, die na een kuur met bedrust en chemotherapie werden geopereerd. Uit afwijkingen van verschillende pathologisch-anatomische aard werden in enigszins verschillende frequentie bacteriën gekweekt. Behalve bij de cavernes met necrotische wandlaag en open bronchus, waaruit meestal veel bacteriën gekweekt werden, was het echter opvallend, dat de meeste laesies negatief waren. Ook was de groei bij positieve laesies vaak schaars, niet meer dan enkele kolonies of weinig afwijkingen in de cavia. Andere onderzoekers, die net als wij materiaal onderzochten van patiënten, wier proces klinisch reeds min of meer tot rust gekomen was, hadden overeenkomstige resultaten. Het is dus een algemeen verschijnsel, dat bij dergelijke patiënten uit kaashaarden, volgelopen cavernes en ook uit nog open cavernes, wanneer het sputum reeds geruime tijd negatief is, vaak geen bacteriën gekweekt worden.

De vraag rijst dus, wat dan de toestand is van de in deze tuberculeuze laesies met kleuring nog te vinden bacteriën. Daarnaast vraagt men zich af, of dit verschijnsel behoort bij het natuurlijke verloop van de tuberculeuze met verkazing gepaard gaande ontsteking in de long en in hoeverre de chemotherapeutica deze toestand hebben teweeggebracht, frequenter gemaakt of bevorderd.

Dat dode bacteriën in de weefsels gedurende jaren kleurbaar kunnen blijven, toonde STEENKEN (1953) aan, die door verhitting gedode bacteriën bij caviae inbracht en deze gedurende 3 jaren vervolgde. Ook na 3 jaren waren er nog kleurbare bacteriën aanwezig.

CANETTI (1947) onderzocht de variatie in het aantal bacteriën in tuberculeuze laesies van verschillende aard, door met olie-immersie dunne histologische coupes te bekijken. Hij telde in gebieden van exsudatieve ontsteking tot 1000 bacteriën per 100 gezichtsvelden.

Op het moment, dat verkazing ontstond, kon hun aantal tot 5000 toenemen; wanneer een gebied eenmaal geheel verkaasd was, waren er maar enkele meer te zien. In haarden, die gescleroseerd of in verkalking overgegaan waren, waren er meestal helemaal geen bacteriën meer te zien. Als echter verweking in een haard optrad, nam het aantal zeer sterk toe, tot 20.000, soms zelfs tot 100.000 per 100 gezichtsvelden. In eenmaal gevormde cavernes varieerde het aantal bacteriën, was echter meestal vrij groot, soms zeer groot. In een zuiver fibrineuze, in verkazing overgaande ontsteking vond hij slechts zeer weinig bacteriën. Tussen CANETTI's tellingen en onze bepalingen is geen nauwkeurige vergelijking mogelijk door het verschil in werkwijze. Zijn bevinding van enkele bacteriën per 100 gezichtsvelden bij verkaasde haarden zal wel ongeveer overeenkomen met onze telling Z.N. + 1, of + 2, d.i. maximaal 400 per 100 gezichtsvelden, en zijn bevinding van talrijke bacteriën in verwekende haarden met onze graad + 4 en + 5: dit is bij ons meer dan 50 bacteriën per 5 of meer dan 1000 per 100 gezichtsvelden. Onze bevindingen komen dan in zoverre wel met die van CANETTI overeen, dat wij in de hardtaai haarden in 30% van de gevallen niet meer dan 10 bacteriën in totaal vonden en slechts in 2 gevallen meer dan 1000 per 100 gezichtsvelden, terwijl bij de gemengde, de gedeeltelijk verweekte haarden, in 43% meer dan 1000 per 100 gezichtsvelden voorkwamen.

Als verklaring voor het te gronde gaan van het grootste deel van de bacteriën wanneer verkazing is ontstaan, meenden DUBOS (1952) en HIRSCH (1955) een aantal omstandigheden te vinden, die schadelijk zijn voor de bacteriën. Zij noemen de geheel of gedeeltelijk anaërobe atmosfeer en de in veel necrotische haarden voorkomende hoge koolzuurspanning. Ook zouden organische zuren, zoals melkzuur, die bij anaërobe stofwisseling in ontstekingscellen ontstaan en de vetzuren, die door lipolytische enzymen bij het versterf van de cellen vrij komen, schadelijk zijn voor de bacteriën. In leucocyten, en dus ook vaak in tuberculeus ontstoken weefsels, komt lysozyme voor, dat bactericide werkt. In celkernen komen basische proteïnen, protaminen en histonen voor, die vrijkomen bij necrose van het weefsel en die antibacterieel werken. MEDLAR (1952b) wees erop, dat weliswaar door al dergelijke noxen in de verkaasde gebieden blijkbaar de meeste

bacteriën te gronde gegaan en niet meer kleurbaar zijn, maar dat in sommige haarden plaatselijk of soms in grote gebieden toch veel bacteriën te zien zijn. Hij zag, dat in verse haarden zowel vrij veel als ook zeer weinig bacteriën kleurbaar konden zijn en hij veronderstelde, dat dit samenhangt met de bacteriedichtheid van het ontstekingsweefsel, voordat het in verkazing overgaat. Juist binnenin oude kaashaarden vond hij echter soms plaatselijk zeer grote aantallen bacteriën, in kolonievorm opeengelegd, en dit niet juist op plaatsen, waar verweking was opgetreden. Het leek hem, dat hier in de kaas weer sterke bacterievermeerdering was opgetreden ondanks de ongunstige groeivoorwaarden, die over 't algemeen in kaas bestaan. Bij verweking moeten er physico-chemische veranderingen in de kaas optreden, die sterke bacteriegroei blijkbaar vaak weer mogelijk maken. De oorzaken van verweking zijn nog niet bekend. Het is echter waarschijnlijk, dat de bacterievermeerdering hier vaak op volgt en niet aan voorafgaat, tenminste wanneer er in het verwekende gebied nog bacteriën aanwezig zijn, die tot groei in staat zijn. Dit schijnt vaak het geval te zijn.

SWEANY e.a. (1943) en CANETTI (1946) konden reeds uit oudere, scleroserende en verkalkende laesies en uit gedeeltelijk verkaasde lymfklieren soms geen bacteriën kweken. BECK e.a. (1952), KATZ (1953) en KAUFMANN (1954) kweekten niet uit alle zonder chemotherapeutische voorbehandeling gereceerde kaashaarden bacteriën. Bij het natuurlijk verloop lieten zich dus ook niet in alle gevallen bacteriën kweken uit de oudere, niet in verweking overgegane haarden. Bovendien groeiden er uit kaashaarden ook vaak slechts enkele kolonies bacteriën.

Het is een in de bacteriologie veel voorkomend verschijnsel, dat in een populatie een aantal ouder wordende bacteriën niet te gronde gaan, zich ook niet meer delen, maar in een toestand van verlaagd metabolisme komen, waarin ze lange tijd latent kunnen voortbestaan, kunnen persisteren. In deze toestand zijn ze in hoge mate ongevoelig voor factoren van hun milieu, die voor hun in normale toestand verkerende soortgenoten schadelijk en zelfs dodelijk zijn. Dit valt waar te nemen bij in voedingsbodems groeiende populaties, die met antibacterieel werkende geneesmiddelen vrijwel niet in hun geheel te

doden zijn. Dit geldt ook, wanneer geïnfecteerde proefdieren lang en krachtig met chemotherapeutica worden behandeld (McCUNE 1956). Al waren dan op het moment waarop de behandeling beëindigd werd op geen enkele manier meer bacteriën aan te tonen, maanden later bleken ze er toch weer talrijk te zijn, zoals bij de muizen, die door McCUNE e.a. (1956) met pyrazinamide en INH behandeld werden. Bij proeven van ROBSON (1959) op muizencorneae waren enkele maanden na het staken van langdurende INH-behandeling in enkele levende bacteriën aan te tonen. Het is waarschijnlijk, dat op dergelijke wijze ook een deel van de bacteriën in kaashaarden in de kaas latent in leven blijft, zoals STEENKEN (1959) aantoonde in kazige longhaarden bij konijnen, die na een lange chemotherapeutische behandeling nog een half jaar geobserveerd werden. Terwijl tetrazolzouten, die door reductie in rood of blauw formazan overgaan, kunnen worden aangewend om het zuurstofgebruik en daarmee de hoeveelheid levende bacteriën in suspensies te bepalen, was deze proef negatief, indien aangewend op niet kweekbare bacteriën uit geresecerde laesies (VANDIVIERE e. a. 1952). Dit is begrijpelijk, waar het hier moet gaan om weinige bacteriën, in een rusttoestand verkerende. Dat bij overbrenging op kweekbodems of in proefdieren geen bacteriegroei optreedt, hoeft ook niet de aanwezigheid van de persisterende bacteriën uit te sluiten. McDERMOTT (1959) trachtte ze in tevoren geïnfecteerde en behandelde muizen door vermindering van de weerstand van de dieren weer te doen vermeerderen. De toegediende cortison en de inspanningsproeven van de muizen hadden echter geen effect. Hij veronderstelde, dat deze bacteriën niet automatisch uit hun rusttoestand weer in normaal metabolisme overgaan, wanneer het milieu gunstiger voor hen wordt.

Van de bacteriën in de kaashaarden, waarvan wel de meeste dood zullen zijn en een onbekend aantal latent in leven, laten zich uit een minderheid van de kaashaarden enkele kweken. Deze blijken meestal normaal gevoelig te zijn voor de chemotherapeutica, die de patiënt vaak al geruime tijd had ingenomen. Hebben deze middelen deze bacteriën niet bereikt, of er geen invloed op gehad, zodat ze, gevoelig zijnde, toch voortleven? In het begin van het chemotherapeutisch tijdperk is er sterk aan getwijfeld of deze stoffen wel tot in de haarden

zouden doordringen. CANETTI e.a. (1953) en WEISER e.a. (1953) toonden echter Sm binnenin kaashaarden aan en MANTHEI e.a. (1953) en MANDEL e.a. (1959) vonden daar INH in werkzame dosis. McDERMOTT (1958) besprak de waarschijnlijkheid, dat de chemotherapeutica in de haarden aanwezig zijn in een vorm, waarin ze hun werking kunnen uitoefenen. Zo toonde McCUNE aan, dat chemotherapeutica snel en volledig heendrongen door dikke bindweefselkapsels, die zich hadden gevormd om 2,5 cm grote agarschijfjes welke in de buikholte van konijnen waren gebracht. Het lijkt dus, dat fibrotische kapsels geen belemmering hoeven te vormen. In de kaas zijn de bacteriën ook niet intracellulair aanwezig, zodat celwanden hier geen belemmering voor de werking van chemotherapeutica vormen. Weliswaar zou er enige tijd nodig zijn, voor de stoffen tot in de haarden gediffundeerd waren en zouden ook eerst eiwitten een hoeveelheid chemotherapeutica kunnen binden, maar bij een langdurende toediening zoals bij tuberculose moest dan toch al spoedig een voldoende concentratie bestaan. Van factoren in de haarden, die daar de werkzaamheid zouden opheffen, wordt het zure milieu genoemd, waarin Sm weinig werkzaam zou zijn. Daar dit middel bij partieel anaërobe omstandigheden niet op tuberkelbacteriën en staphylococcen, maar wel op *E. coli* werkt, leek het hem waarschijnlijker, dat dit milieu die bacteriën in een voor de inwerking van het Sm ongevoelige toestand brengt, dan dat het aan de Sm iets verandert. Toch kunnen er andere factoren zijn, die wel degelijk verhinderen, dat de chemotherapeutica op de bacteriën inwerken. Zo noemde DUBOS (1953) natriumpyruvaat, afkomstig uit afgestorven cellen, dat de werking van INH opheft. COLETSOS (1954) toonde bactericide werking van vluchtige anesthetica aan, zoals ether, chloroform, cyclopropan, die zij in geringe mate ook uitoefenen op bacteriën in resectiepreparaten. McDERMOTT echter achtte het waarschijnlijk, dat de grootste belemmering voor de werking van de chemotherapeutica op de bacteriën in de kaashaarden werd gevormd door de rusttoestand van de nog levende bacteriën. Immers MACKANESS (1953) en SCHAEFER (1954) toonden aan, dat alleen zich delende bacteriën door chemotherapeutica beïnvloed worden. Hoewel er wel verschil moet bestaan tussen de niet kweekbare bacteriën

en die welke in zeer kleine aantallen tot kolonievorming overgaan, meenden hij en CANETTI (1959) dat ook de laatste behoren tot degenen, die zich in rusttoestand bevonden en dat ze daarom gevoelig gebleven zijn.

Uit onze gevallen bleek, dat vooral bij korter dan 7 maanden behandelde haarden van patiënten, wier proces röntgenologisch nog activiteit had vertoond, de frequentie waarin bacteriën hieruit gekweekt werden, groter was dan bij lang behandelde. Ook STEWART (1956) vond bij korte behandeling vaker positieve kweek dan bij lange behandeling. Ook kwam het bij die kort behandelde haarden vaker voor, dat er nog vrij veel bacteriën gekweekt werden, dan bij de haarden, die na een behandeling van 7 tot 10 maanden positief waren. Blijkbaar is tijdens de behandeling in de loop van ongeveer 10 maanden het aantal kweekbare bacteriën gedaald, zodat ze daarna hoogst zelden meer kweekbaar waren. In hoeverre deze afname in kweekbaarheid een gevolg van de natuurlijke ontwikkeling in deze haarden is geweest en in hoeverre de antibiotica hieraan hebben meegewerkt, is niet uit ons onderzoek af te leiden. Het is waarschijnlijk juist in die periode van nog kweekbare bacteriën, dat gemakkelijk voortgang van bacteriegroei plaatsvindt, met als gevolg uitbreiding van de kaashaarden of, indien de bacteriegroei bij verweking voorkomt, soms cavernevorming en uitzaaiing. Deze progressie zal grotendeels door de toediening van chemotherapeutica kunnen worden voorkomen en hiermede zal het inactief worden van het proces worden bespoedigd. Ook nadat er geen bacteriën meer kweekbaar zijn, blijven latent waarschijnlijk nog bacteriën voortleven in rusttoestand, waarvan er waarschijnlijk geleidelijk meer afsterven, tot de haarden steriel worden, tenzij ondertussen, op een niet te voorspellen ogenblik, de omstandigheden gunstig worden voor bacterievermeerdering en zo weer een opvlamming van de tuberculose kan ontstaan.

CANETTI (1959), YOUMANS (1959) en anderen wezen er op, dat resistentie van een belangrijk deel der bacteriën in een populatie alleen ontstaat in zich vermeerderende populaties. Waarschijnlijk zijn in elke populatie, die voor het eerst met een chemotherapeuticum in aanraking komt, reeds een zeer klein aantal bacteriën aanwezig, die resistent zijn voor een kleinere of hogere concentratie van deze stof.

Deze frequentie zou voor Sm ongeveer 1 op 10^7 bacteriën bedragen, resistent voor 10 γ , voor INH ongeveer 1 op 10^5 , resistent voor 1 γ , maar varieert waarschijnlijk aanzienlijk. Bacteriën, die van nature tegen meer dan één middel resistent zijn, zijn veel zeldzamer. Bij aanwezigheid van het chemotherapeuticum zullen de zich delende bacteriën, die er gevoelig voor zijn, zich niet meer vermeerderen. Een groot deel sterft af, enkelen kunnen persisteren en eventueel later, wanneer zij in een milieu zonder dit chemotherapeuticum komen, zich weer gaan vermeerderen. Dit kan bij voorbeeld als de toediening van het antibioticum gestaakt wordt, of als de populatie bij een cavia wordt ingespoten. De resistente bacteriën vermeerderen zich ondertussen ongehinderd, nu ook niet meer gestoord door de gevoelige bacteriën en kunnen zo de overgrote meerderheid van de populatie gaan vormen. Daar van nature resistentie van bacteriën tegen INH het meest voorkomt, is het niet verwonderlijk, dat INH-resistentie het gemakkelijkst optreedt. Dat resistentie onder de weinige kolonies, die uit kaashaarden gewoonlijk gekweekt worden, zo weinig voorkomt, zou dus het gevolg zijn van het feit, dat hierin meestal geen grote populaties bestaan, waarop de chemotherapeutica hun selecterende invloed kunnen laten gelden. De in cavernes meestal voorkomende grote populaties nemen onder invloed van chemotherapeutische behandeling snel af en hiermee vermindert tevens de toxische invloed, die er van uitgaat op de cavernewand en zijn omgeving. Wanneer de weerstand van de patiënt niet zeer zwak is en er lokaal geen oorzaken zijn, die genezing van de caveerne in de weg staan, zal deze meestal genezen. Dit kan geschieden in de vorm van een klein litteken of bij totaal verdwijnen van de bacteriën uit de nog open caveerne als open genezing. Ook kan de caveerne, kleiner geworden, vollopen. De dan nog in de inhoud aanwezige bacteriën zullen, in het nu zuurstofarmere milieu, eensdeels sneller afsterven, anderdeels persisteren, juist als in kaashaarden en later, als eventueel de caveerne weer opengaat, zich weer vermeerderen en zo tot een recidief bijdragen. Deze ontwikkeling kan plaatsvinden, terwijl zich reeds een resistente flora ontwikkelde. De persisterende bacteriën zullen dan geheel of ten dele uit resistente bacteriën bestaan. (CANETTI 1959 a). Een dergelijk geval vormde in onze serie waarschijnlijk het

beschreven geval 229. In de resectiepreparaten werden daarnaast een aantal cavernes aangetroffen, die een gedeeltelijk gereinigde wand hadden, en waarin nog meestal — zij het niet veel — bacteriën aanwezig waren, die zich uit onze cavernes niet lieten kweken, bij andere onderzoekers soms wel. Hier was zowel anatomisch als bacteriologisch een verbetering t.a.v. de uitgangstoestand. Mogelijk lijkt het, dat deze cavernes onder voortgezette behandeling zouden zijn genezen, mogelijk ook, dat deze bacteriën reeds resistent waren en zich naderhand weer zouden hebben vermeerderd.

Bij de gedeeltelijk verweekte, de gemengde haarden, die bij kleuring een grote bacteriedichtheid hadden, werden 4 keer in een hieruit gekweekte populatie tegen INH resistente bacteriën aangetroffen, hetgeen het — gezien het voorgaande — waarschijnlijk maakt, dat hier vrij grote populaties onder invloed van de chemotherapeutica gekomen waren.

Bij samenvatting van de uitkomsten van het eigen onderzoek bleken de volgende bevindingen: uit kaashaarden van patiënten, die met een actief tuberculeus proces onder behandeling met bedrust en antibiotica kwamen, nam het aantal haarden, waaruit bacteriën gekweekt konden worden, af van 20 % in de eerste 3 behandelingsmaanden tot 2 % in de periode van 10 tot 12 maanden behandeling. Hierbij nam tevens het aantal kolonies, dat uit deze haarden gekweekt kon worden, af. Het is, gezien de gegevens, die uit de literatuur vermeld werden, waarschijnlijk, dat zich bij overeenkomstige niet geopereerde patiënten ook daarna levende, maar in een rusttoestand persisterende bacteriën in de haarden hebben bevonden, waarop chemotherapeutica geen invloed uitoefenen, zolang ze zich niet weer gaan delen. Of dit laatste gebeurt, zal wel grotendeels afhangen van verandering in weerstand van de patiënt, hoe ook veroorzaakt, of van lokale veranderingen in het weefsel, zoals MASSHOF (1959) beschreef.

Cavernes uit ons materiaal, die open bleven onder chemotherapie, ook al was het sputum reeds geruime tijd negatief, bevatten meestal nog tuberkelbacteriën, die niet of moeilijk kweekbaar waren.

Samenvatting

In dit proefschrift zijn de uitkomsten beschreven van een bacteriologisch onderzoek, dat was gericht op het aantonen van tuberkelbacteriën in gereseceerde longdelen en van enkele van hun eigenschappen. Resultaten van dergelijke onderzoeken zijn weliswaar reeds in grote getale door buitenlandse auteurs gepubliceerd, het leek echter de moeite waard na te gaan hoe de uitkomsten zouden zijn bij materiaal afkomstig van patiënten, behandeld in een Nederlands sanatorium naar maatstaven, welke in Nederland gebruikelijk zijn.

In *hoofdstuk I* werd vermeld, dat het onderzochte materiaal 255 niet geselecteerde longdelen betrof, afkomstig van 245 patiënten, die in het sanatorium Beatrixoord, Appelscha, ter behandeling opgenomen waren en in de jaren 1955, 1956 en 1957 geopereerd werden. In deze periode werd bij 28% van alle opgenomen patiënten resectie verricht. In 75 van de 245 gevallen was het longproces tijdens de aan de resectie voorafgaande kuur caverneus; preoperatief was bij 24 nog een caverne aanwezig. Het sputum was in de laatste 3 maanden nog bij 31 gevallen positief, resistentie van de bacteriën in het sputum tijdens de kuur werd bij 23 patiënten waargenomen. De gemiddelde duur van de behandeling met combinaties van chemotherapeutica was 8,2 maand. In de meeste gevallen werd tot resectie besloten om hiermee recidief te voorkomen uit resterende afwijkingen. De meeste ingrepen waren segmentresecties (tabel 3).

In *hoofdstuk II* is de werkwijze beschreven. De gereseceerde longdelen werden binnen 4 uur zo steriel mogelijk onderzocht, de diverse laesies werden met afzonderlijke instrumenten bewerkt, grote haarden en cavernes het laatst. Het materiaal werd, na verwrijven in zoutoplossing, op Löwenstein-Jensen bodems en voor een deel in caviae geënt. Vrij veel kweken vertoonden pas na meer dan 6 weken groei (tabel 4). Uitstrijkpreparaten van het materiaal, gekleurd volgens Ziehl-Neelsen, werden onderzocht op het aantal aanwezige tuberkelbacteriën. Dit werd aangegeven volgens de schaal Bronkhorst, oplopend van negatief na 20 minuten zoeken, tot de graad +5 voor meer dan 100 bacteriën per 5 gezichtsvelden.

Bij de ingezette caviae werd na 8 weken een Mantoux-reactie met

0,1 cc 1/100 O.T. verricht. Bij de sectie, na 3 maanden, werden de afwijkingen macroscopisch beoordeeld, en werd steeds een kweek ingezet van de milt, en daarnaast van organen met afwijkingen. Er was een goede overeenstemming tussen de uitkomsten van de tuberculine-reactie en de vondst van afwijkingen. De caviae waren iets vaker positief dan de Löwenstein-kweken. Voor virulentiebepalingen werden caviae geënt met 0,2 mg van een goed gegroeide overenting van de geïsoleerde bacteriepopulatie en werd de uitgebreidheid der na 3 maanden aanwezige afwijkingen als maatstaf genomen. Van alle verworven bacteriepopulaties werd de gevoeligheid voor Sm, PAS en INH bepaald. Naast een bepaling met grote entdosis werd zo nodig een quantitative bepaling met lage entdosis verricht, beide op vaste voedingsbodems. Het katalasegehalte werd bepaald op de buis volgens MIDDLEBROOK of op een objectglaasje volgens MEISSNER.

Bij uit longlaesies gekweekte populaties, die resistent tegen INH waren en een verminderde virulentie voor de cavia hadden, werd een intraperitoneale enting met 0,05 mg bij goudhamsters verricht. Deze werden maximaal 8 maanden geobserveerd. Sommige van deze populaties, resistent tegen 30γ, hadden na 8 maanden weinig afwijkingen in de hamsters veroorzaakt, de uit deze dieren gekweekte bacteriën waren nog even resistent en nog even weinig virulent voor de cavia. Andere populaties, die ook een sterk afgenomen virulentie voor de cavia hadden, maar een minder hoge resistentie, waren vrijwel even virulent voor de hamsters als normaal gevoelige tuberkelbacteriën, die virulent voor caviae waren. De uit deze hamsters gekweekte bacteriën leken nog even INH-resistent en even weinig virulent voor de cavia. Daarnaast waren er INH-resistente populaties, waaruit na 8 maanden gevoelige bacteriën gekweekt werden met normale virulentie voor de cavia, terwijl de oorspronkelijke populatie een voor de cavia sterk verminderde virulentie had gehad.

Na bespreking van een aantal literatuurgegevens over verschillende methoden voor het bewerken en kweken van tuberkelbacteriën uit longafwijkingen, wordt geconcludeerd, dat het onwaarschijnlijk lijkt, dat het grote aantal negatieve kweken in het onderzochte materiaal in belangrijke mate veroorzaakt is door de door ons gevolgde werkwijze.

Op regelmatige tijden werden planigrammen van de longafwijkingen bij de patiënten gemaakt, zodat bij bijna allen de verandering hiervan tijdens de behandeling goed te vervolgen was (*hoofdstuk III*). Vooral aan cavernes en haardvormige afwijkingen werd aandacht geschonken. Een aantal van de cavernes bleef tijdens de behandeling bestaan, maar werd kleiner, dunwandiger, met een vagere opheldering, sommige waren op latere planigrammen niet meer terug te vinden, sommige werden tot een haardvormige, afgeronde schaduw, andere tot een ster- of lijnvormige configuratie. Vaag begrensde schaduwen werden tijdens de behandeling meestal tot afgeronde kaashaarden; haarden, die van het begin af scherp begrensd waren, bleken vaak stationair, werden soms kleiner. Enkele haarden vertoonden een kleine opheldering, vaak alleen aan het begin van de kuur.

De gereceerde longafwijkingen werden zo goed mogelijk gecorreleerd met de planigrafisch waargenomene. Ze werden macroscopisch aan het verse preparaat beoordeeld. Ook hierbij werden vooral cavernes en kaashaarden onderzocht. Eventueel aanwezige tuberculeuze bronchus-afwijkingen werden of niet onderzocht, of, indien ze verkaasd waren, waarschijnlijk tot de kaashaardjes gerekend. De cavernes werden beoordeeld op luchthoudendheid, kazige of purulente inhoud, of de wand necrotisch beslagen of roze of glad was en of de toevoerende bronchus doorgankelijk of afgesloten was. De kaashaarden werden onderscheiden naar grootte en consistentie van de kaas.

In *hoofdstuk IV* volgen dan de resultaten van het onderzoek. Toenemende duur van de behandeling met bedrust en chemotherapie leidde tot afname van het aantal preparaten, waaruit bacteriën gekweekt werden bij de gevallen zonder resistente sputumflora. Deze correlatie ontbrak bij de gevallen met resistente sputumflora (tabel 5). Wanneer de patiënten tijdens de laatste kuur caverneuze afwijkingen hadden, werden uit de longdelen niet vaker bacteriën gekweekt dan wanneer het proces alleen uit kaashaarden bestond, mits resistente sputumflora ontbrak. Alle preparaten van patiënten, die wegens de gevolgen van een primaire tuberculose werden geopereerd, hadden een negatief resectie-preparaat (tabel 6).

Wanneer de gevallen zonder resistente sputumflora werden verdeeld naar het optreden van veranderingen in de verkazende afwijkingen,

zoals dit bij vergelijking van de opeenvolgende planigrammen viel te beoordelen, dan bleken het vaakst kaashaarden positief te zijn uit de korter dan 10 maanden behandelde gevallen met duidelijke röntgenologische veranderingen. Uit de gevallen, die stationair leken en ook steeds negatief sputum hadden, werden zelden bacteriën gekweekt en was er ook geen samenhang met de behandelingsduur (tabel 7). Strooihaarden bij caverneuze processen, waarbij geen resistentie in het sputum was geconstateerd, bevatten vooral bij een korter dan 10 maanden durende behandeling kweekbare bacteriën (tabel 8,9).

Als bij een patiënt, waarbij geen resistente sputumflora was aangetoond, het sputum in de laatste 3 maanden positief was, betrof dit meestal een positief Z.N.-preparaat met negatieve cultuur. Dit kwam nogal eens bij lang behandelde gevallen voor, die tevoren reeds negatief waren en het vormde dan een factor bij de indicatiestelling tot de resectie. Röntgenologisch werd hierbij zelden een verergering gezien. In deze gevallen was het preparaat niet vaker positief dan wanneer het sputum in de laatste 3 maanden negatief was. Indien resistentie in het sputum was geconstateerd tegen Sm, PAS of INH of combinatie hiervan, dan waren er niet extra veel positieve preparaten, wanneer toch het sputum de laatste 3 maanden negatief geworden was, wèl, als het sputum positief was gebleven. (tabel 11, 12, 13, 14).

Het voorkomen van nog open cavernes bij patiënten met reeds meer dan 3 maanden negatief sputum leidde niet tot een vergroot aantal positieve resectie-preparaten (tabel 15). De longlaesies van lang behandelde patiënten bleken ongeveer even vaak talrijke kleurbare bacteriën te bevatten en ook ongeveer even vaak weinige kleurbare bacteriën als de laesies van kort behandelde patiënten (fig. 2).

Ook bij afzonderlijke beschouwing van de kaashaarden, afkomstig van patiënten zonder resistente sputumflora, bleek bij toenemende behandelingsduur het percentage met kweekbare bacteriën af te nemen: van 20% van de korter dan 4 maanden, tot 1% van de minstens 10 maanden behandelde haarden.

Alleen bij de krijtige haarden ontbrak deze vermindering in kweekbaarheid. De haardgrootte had geen invloed op de kweekbaarheid van de bacteriën (tabel 17). De consistentie van de kaas had weinig invloed. De krijtige haarden bevatten slechts in 2 % kweekbare

bacteriën, de gemengde, d.w.z. gedeeltelijk verweekte of vervloede in 18 %, bij de andere haarden varieerde het percentage tussen 8 en 13. Alle kaashaarden bevatten in ongeveer 90 % kleurbare bacteriën (tabel 17, 18, 19).

De gemengde haarden (§ 3) bleken ten dele identiek te zijn met haarden welke röntgenologisch tijdens de kuur een kleine opheldering hadden vertoond, ten dele hadden ze zich vertoond als een ongelijkmatige, ten dele als een gelijkmatige schaduw (tabel 20, 21). Voor het röntgenbeeld, noch voor de kweekbaarheid der bacteriën maakte het verschil of ze naast vaste kaas gedeeltelijk verweekte of vervloede inhoud hadden. Haardgrootte had ook hier geen invloed op de kweekbaarheid (tabel 22).

Bij vergelijking van het aantal kleurbare bacteriën in verschillende soorten laesies (fig. 3) bleek een grote bacteriedichtheid bij de andere kaashaarden in ongeveer 6 % voor te komen, bij de volgelopen cavernes in 4 %, bij deze gemengde haarden echter in een percentage dat weinig geringer was dan dat van open cavernes (43 tegen 55 %). Ook bleken speciaal bij de gemengde haarden uit de exemplaren met grote bacteriedichtheid juist vaak bacteriën kweekbaar te zijn (tabel 23). Ook bij de gemengde haarden kwam grote bacteriedichtheid in het ZN-preparaat even vaak bij kort als bij lang behandelde voor (tabel 25) en leek afname van de kweekbaarheid voor te komen bij langer duren van de behandeling.

Uit cavernes (§ 4), zowel wanneer ze röntgenologisch nog open als reeds gesloten waren, bleken zelden meer bacteriën kweekbaar te zijn, wanneer het sputum al langer dan 3 maanden negatief was. Als dit nog positief was, was de kweek uit de caverne meestal ook positief (tabel 27, 28).

Zowel wanneer cavernes röntgenologisch nog een actief aspect boden, als wanneer ze klein geworden waren, met een nog slechts flauwe opheldering, bleek de wand meestal nog bedekt te zijn met een necrotisch beslag.

Bij een minder floride röntgenologisch aspect waren de bacteriën uit de caverne minder vaak te kweken dan uit de röntgenologisch nog actieve cavernes, ook al toonde de wand nog een necrotisch beslag. Ook kwam hierbij enige keren een gladde wand en een zeer

gering aantal kleurbare bacteriën voor met daarbij negatieve kweek. Onder deze cavernes was er één, die histologisch het beeld van een open genezen caveerne bood. Bij de cavernes met necrotische wand was de bronchus meestal open, bij de gedeeltelijk gereinigde was hij meestal niet te sonderen. Een min of meer gereinigde wand werd vooral bij lang behandelde cavernes gezien. Wanneer het sputum hierbij in de laatste 3 maanden nog positief was, waren in die periode deze sputumbacteriën onkweekbaar (tabel 30, 31). De volgelopen cavernes bevatten meestal weinig kleurbare bacteriën, die zelden kweekbaar waren. De bindweefsellittekens bevatten weinig of geen kleurbare bacteriën, die steeds onkweekbaar waren. Bij 6 cavernes zonder kweekbare bacteriën waren strooihaarden nog positief.

Alleen wanneer er resistentie van de bacteriën in het sputum tegen meer dan een der middelen Sm, PAS en INH was geconstateerd en wanneer hierbij het sputum positief bleef, was het resectiepreparaat meestal positief (§ 5). Toch waren in deze gevallen meestal alleen de cavernes positief en werden uit tevens aanwezige kaashaarden niet vaak bacteriën gekweekt (tabel 32). Verondersteld werd, dat deze kaashaarden reeds in vroegere ziekteperioden waren ontstaan en inactief geworden, of dat ze in de laatste kuur met de toegediende chemotherapeutica tot rust waren gekomen, terwijl de aanwezige cavernes niet waren genezen.

Enkele eigenschappen, onderzocht bij de gekweekte bacteriënpopulaties, zijn besproken in *hoofdstuk V*. Het bleek, dat uit kaashaarden meestal een schaars (tot in totaal 10) of minder vaak een matig (tot 200) aantal kolonies groeiden. De bacteriegroei uit open cavernes was meestal rijkelijk en bestond steeds uit resistente bacteriën. Resistentie alleen tegen Sm kwam 1 keer voor, tegen PAS 2 keer, in alle 3 gevallen was de groei schaars of alleen de cavia positief. Resistentie tegen INH alleen kwam zowel bij schaarse als bij rijkelijke groei voor. In geen enkel geval werden INH-resistente bacteriën uit een cavia gekweekt, terwijl de kweek van hetzelfde materiaal negatief was.

Als INH-resistentie samenging met resistentie tegen PAS en/of Sm, was de groei meestal rijkelijk, nooit schaars (tabel 33).

Van de populaties, die uit gevoelige bacteriën bestonden, groeiden

bij de minder dan 4 maanden behandelde haarden 60 % met meer dan 10 kolonies, van de 7-9½ maand behandelde 5 % (tabel 34). Wanneer het materiaal zowel op een kweekbodem als in een cavia geënt was, waren bij de cavia in een derde der gevallen de afwijkingen zeer gering. Dit kwam even vaak voor als de kweekproef negatief als zwak of sterk positief was (tabel 35). Alle populaties met gevoelige bacteriën bleken echter bij indirecte enting bij de cavia een normale virulentie te hebben (tabel 36). Bij 57 gevoelige populaties werd de katalaseproef uitgevoerd. Deze was positief in 53 gevallen, zwak positief of negatief in 4 gevallen.

Resistentie van de bacteriën tegen een of meer der middelen Sm, PAS en INH werd in 23 gekweekte bacteriepopulaties waargenomen: 13 keer tegen Sm, 15 keer tegen PAS, 20 keer tegen INH. Als het sputum tot aan de operatie positief was, was er geen verschil tussen de resistentie der uit het preparaat en uit het sputum gekweekte bacteriën. Soms werd resistentie van de bacteriën in een longafwijking gevonden, terwijl het sputum steeds negatief was, soms was de sputumflora vroeger ongevoelig, soms was ze licht resistent geweest, een enkele keer leken de bacteriën in het preparaat minder sterk resistent als in het sputum. Gevoeligheid van de bacteriën in het preparaat bij resistentie van de sputumflora werd niet gevonden. Als meer dan één afwijking in het preparaat positief was, vertoonden de bacteriën dezelfde graad van resistentie (tabel 37, 38).

De bacteriepopulaties, resistent tegen PAS en Sm, behielden hun resistentie bij enkele passages over caviae en voedingsbodems. Bij de tegen INH resistente populaties bleek geen verband te bestaan tussen de hoogte van de INH-resistentie en de lengte van de totale duur van INH-behandeling: bij enkele kort behandelde kwam resistentie tegen minstens 30γ voor, enkele meer dan 10 maanden behandelde waren tegen niet meer dan 0,3γ resistent. De korter dan 4 maanden behandelde, hoewel resistent tegen 30γ, hadden een positieve katalase, wat veroorzaakt werd door aanwezigheid in de populatie van gevoelige bacteriën; de langer behandelde INH-resistente populaties hadden een negatief of zeer zwak positief katalasegehalte en hadden bovendien, voorzover dit onderzocht werd, een afgenomen virulentie voor de cavia (tabel 39, 40).

De samenstelling van deze populaties werd verder onderzocht met kwantitatieve resistentiebepalingen, katalasebepalingen en voortkweken in caviae en goudhamsters. Hierbij bleek van 2 populaties reeds bij eerste resistentie- en katalasebepaling de gemengde samenstelling. Uit één populatie werden gevoelige bacteriën geïsoleerd door voortkweken in caviae, bij 5 populaties gelukte het niet om gevoelige bacteriën te isoleren uit caviae, die 3 maanden instonden, maar wel uit hamsters, die maximaal 8 maanden instonden. Uit 6 populaties konden naast de INH-resistente bacteriën geen gevoelige aangetoond worden. In een slotbeschouwing worden enkele algemene problemen aangevoerd aan de hand van literatuurgegevens. Onkweekbaarheid van de bacteriën in de tuberculeuze kaashaarden sluit geenszins uit, dat een deel van de bacteriën in leven is, zij het ook, dat ze waarschijnlijk in een toestand van verminderd metabolisme verkeren.

Onkweekbaarheid van de bacteriën is aangetoond in oudere kaashaarden, waarop geen chemotherapie was toegepast, is dus niet alleen het gevolg van chemotherapie. In hoeverre de in ons materiaal aangetoonde samenhang tussen toenemende behandelingsduur met het afnemen van het aantal haarden met kweekbare bacteriën en met het afnemen van het aantal uit de haarden gekweekte kolonies een gevolg van de chemotherapeutische behandeling of van het verouderen van de haarden is, is niet duidelijk.

De gekweekte bacteriepopulaties uit kaashaarden zijn in grote meerderheid gevoelig voor de middelen die de patiënt gebruikt had. Hoewel het niet uit te sluiten is, dat bepaalde factoren de werking van de chemotherapie belemmeren kunnen, wordt aannemelijk geacht, dat het toch vooral de toestand van verlaagd metabolisme en geringe mate van celdeling is, die de bacteriën in leven doet blijven, zonder dat ze resistent tegen de toegediende middelen worden. Resistentie treedt vooral op, wanneer de antibacterieel werkende middelen een selecterende invloed kunnen doen gelden op zich delende populaties waarin van nature steeds wel kleine aantallen resistente bacteriën aanwezig zijn. Het vinden van weinige kweekbare, resistente bacteriën in sommige laesies zou er dan op wijzen, dat hier resistent geworden populaties te gronde zijn gegaan, waaruit enkele persisterende bacteriën gekweekt konden worden.

Chemotherapeutica kunnen alleen die laesies beïnvloeden, waarin zich delende populaties voorkomen; gebieden met exsudatieve ontsteking, kaashaarden, waarin weer bacterievermeerdering optreedt — al of niet samengaan met verweking — en open cavernes.

Summary

This thesis describes the results of a bacteriological investigation intended to demonstrate the presence of tubercle bacilli in resected parts of lungs and to study some of their properties. Although the results of such investigations have already been published in great numbers by authors from other countries, it seemed still worth while to find out how the results would be in material originating from patients treated in a Dutch sanatorium according to criteria currently accepted in the Netherlands.

Chapter I. The material studied consisted of 255 non-selected parts of lungs originating from 245 patients treated in the Beatrixoord Sanatorium Appelscha, who were operated upon in the years 1955, 1956 and 1957. In this period, resection was carried out in 28% of all patients admitted. In 75 of the 245 cases the pulmonary process had been cavitary during the course of treatment preceding the resection; pre-operatively, 24 patients still had a cavity. In the last three months the sputum was still positive in 31 patients, and resistance of the bacteria in the sputum during treatment was observed in 23 patients. The average duration of treatment with combinations of chemotherapeutics was 8.2 months. In most of the cases resection was performed to prevent relapses from residual lesions. Most of the operations were segmental resections (Table 3).

Chapter II gives a description of the working method. The resected lung specimens were examined within four hours under conditions as sterile as possible; the various lesions were handled with separate instruments, large foci and cavities were dealt with last of all. After trituration in saline solution, the material was partly inoculated on Löwenstein-Jensen media and partly in guinea-pigs. A fair proportion of cultures did not show growth until after more than six weeks (Table 4). Smears, made of the material and stained according to the Ziehl-Neelsen method, were studied for the number of tubercle bacteria present. This was indicated by means of the Bronkhorst scale, ascending from negative after a 20 minutes' search up to degree +5 for more than 100 bacteria per five visual fields.

In the guinea-pigs a Mantoux-reaction with 0.1 ml.1/100 O.T. was

carried out after eight weeks. On autopsy, after three months, the changes were judged macroscopically; a culture was always made of the spleen, and in addition of organs with lesions. There was good agreement between the results of the tuberculin reaction and the finding of lesions. The guinea-pigs were somewhat more often positive than the Löwenstein cultures. Guinea-pigs were inoculated with 0.2 mg. of a well-grown passage of the isolated bacterial populations and the extent of the changes present after three months was taken as a criterion for the virulence of the population. The sensitivity for streptomycin, PAS and isoniazid was determined for all bacterial populations obtained. In addition to a determination with large inoculation dosis, if need be a quantitative determination was carried out with low inoculation dosis, both of them on a solid medium. The catalase content was determined on the tube according to MIDDLEBROOK or on an object slide according to MEISSNER.

Populations cultured from lung lesions resistant to isoniazid and with a reduced virulence for guinea-pigs, were intraperitoneally inoculated in golden hamsters with 0.05 mg. These animals were kept alive for maximally eight months. Some of these populations, resistant against 30 μ g., had caused only few changes in the hamsters after eight months; the bacteria cultured from these animals were as resistant and as attenuated for guinea-pigs as before. Other populations, which also had a markedly reduced virulence for guinea-pigs but which were less resistant, were almost equally virulent for the hamsters as are normally sensitive tubercle bacteria with virulence for guinea-pigs. The bacteria cultured from these hamsters seemed still as isoniazid-resistant and as attenuated for guinea-pigs as before. Besides, there were isoniazid-resistant populations from which, after eight months, sensitive bacteria with normal virulence for guinea-pigs were cultured, while the original population had been attenuated for these animals.

After discussion of a number of literature data on various methods of handling and culturing tubercle bacteria from lung lesions, it is thought improbable that the great number of negative cultures in the material studied was caused to any important degree by the working method followed by us.

Planigrams of the patient's lung lesions were made, at regular times, and the changes of these lesions could therefore be followed during the treatment in almost all cases (*Chapter III*). Special attention was paid to cavities and focal lesions. A number of the cavities persisted during the treatment, but they became smaller, with thinner walls, with a vaguer clarification; some had disappeared in later planigrams, some changed into a focal, rounded-off shadow, others again into a star-shaped or linear configuration. Vaguely delimited shadows usually changed into rounded-off caseous foci during the treatment; foci that had been sharply delimited right from the beginning, often proved to be stationary, sometimes they became smaller. Some foci showed a small clarification, often only in the beginning in the course of treatment.

The resected lung lesions were correlated as well as possible with the shadows that were observed on the planigrams. They were judged according to their naked-eye appearance in the fresh specimen. Here also the cavities and caseous foci were specially examined. Tuberculous bronchial lesions, if present, were either not examined or, if they were caseated, were probably considered as belonging to the caseated foci. The cavities were judged according to the following criteria: air content; caseous or purulent content; the presence or absence of a necrotic coating of the cavity wall or whether this wall was pink or smooth; patency or obstruction of the afferent bronchus. The caseated foci were distinguished according to size and consistency of the caseous matter.

Chapter IV deals with the results of the investigation. Increasing duration of treatment with bed rest and chemotherapeutics led to a reduction of the number of specimens from which bacteria were cultured in the cases without resistant sputum flora. This correlation was absent in the cases with resistant sputum flora (Table 5).

If the patients had had cavitory lesions during the last course of treatment, bacteria were not more often cultured from the lung specimens than when the process consisted only of caseated foci, provided there was no resistant sputum flora. All resected specimens from patients operated upon because of the sequelae of a primary tuberculosis, were negative (Table 6).

A distribution of the cases without resistant sputum flora according to the occurrence of changes in the caseating processes (as could be judged by comparison of subsequent planigrams) showed that the greatest number of positive caseated foci were found among the cases with marked radiological changes treated for a period of less than ten months. The cases that seemed stationary and which always had negative sputum, only rarely yielded bacteria on culture; neither was there any correlation with the duration of treatment (Table 7). Disseminated foci in cavitory processes, in which no resistance had been found in the sputum, contained culturable bacteria, especially in the cases treated less than ten months (Tables 8, 9).

If in patients, in whom no resistant sputum flora had been demonstrated, the sputum had been positive for the last three months, the positivity concerned was usually a positive smear with negative culture. This occurred infrequently in cases treated for a long period who had already been negative before.

Radiologically, an aggravation was only rarely observed. In these cases the specimen was not more often positive than if the sputum had been negative for the last three months. If resistance to streptomycin, PAS or isoniazid or to combinations of these, had been demonstrated in the sputum, the number of positive specimens was not extra great if the sputum had been negative for the last three months; this number was great, however, if the sputum had remained positive. (Tables 11, 12, 13, 14).

The presence of still open cavities in patients with negative sputum for more than three months did not lead to an increased number of positive resection specimens (Table 15). The lung lesions of patients treated for a long time proved to contain about equally often numerous stainable bacteria and also about equally often few stainable bacteria as the lesions of patients treated for a short period (Fig. 2).

Separate consideration of the caseated foci originating from patients without resistant sputum flora showed that, with increasing duration of treatment, the percentage with culturable bacteria diminished: from 20% in the foci treated less than four months, to 1% in the foci treated for ten months at least.

Only in chalky foci was this reduction in culturability not observed.

The size of the foci had no influence on the culturability of the bacteria (Table 17). The consistency of the caseous matter had little influence. Only 2% of the chalky foci contained culturable bacteria as against 18% in the mixed, i.e., partially softened or liquefied foci; in the other foci the percentage varied between 8 and 13. About 90% of all caseated foci contained stainable bacteria (Tables 17, 18, 19). The mixed foci (par. 3) proved to be partially identical with foci which radiologically had shown a small clarification during the course of treatment, for another part they presented partially uneven, partially even shadows (Tables 20, 21). Neither for the X-ray pictures nor for the culturability of the bacteria did it make any difference whether these foci contained, apart from solid caseous matter, a partially softened or a partially liquefied content. Here also the size of the foci had no influence on the culturability (Table 22).

Comparison of the numbers of stainable bacteria in different kinds of lesions (Fig. 3) demonstrated that about 6% of the other caseated foci had a high bacterial count; in the filled-in cavities this proportion was about 4%, but the mixed foci had a percentage only little less than that of open cavities (43 against 55%). Among the mixed foci especially the foci with high bacterial count often yielded culturable bacteria (Table 23). High bacterial count in the stained smears was equally often found in the mixed foci treated for a long time as in those treated for a short time (Table 25), and there seemed to be a diminution of the culturability on longer duration of treatment.

Cavities (par. 4) radiologically open as well as already closed, only rarely yielded culturable bacteria when the sputum had been negative for longer than three months. If the sputum was still positive, the culture from the cavity was usually also positive (Tables 27, 28). The cavitory wall was mostly still covered with a necrotic lining, both when the cavities were radiologically still active, and when they had become small, with only a weak clarification.

Cavities with a less florid radiological appearance yielded less often positive cultures than radiologically still active cavities, even though the wall had still a necrotic lining. On a few occasions a smooth wall and a very low number of stainable bacteria were found with negative culture. One of these cavities presented the histological picture of an

open healed cavity. In the cavities with necrotic wall the bronchus was usually open, in the partially clean cavities the bronchus was usually closed. A more or less clean wall was especially seen in cavities treated for a long time. If the sputum of these cases had been still positive for the last three months, the sputum bacteria were unculturable in this period (Tables 30, 31). The filled-in cavities usually contained few stainable bacteria, which were only rarely culturable. The connective tissue scars contained few or no stainable bacteria; these were always unculturable. Disseminated foci with culturable bacteria were found in six cases without culturable bacteria in the cavities.

Only if resistance of the sputum bacteria to more than one of the drugs streptomycin, PAS and isoniazid had been observed and if the sputum remained positive, was the resection specimen usually positive (Par. 5). Nevertheless, in these cases only the cavities were generally positive, and cultures from caseated foci that were also present did not often yield bacteria (Table 32).

The supposition was made that these caseated foci had already developed in earlier periods of disease and that they had become inactive, or that they had become quiescent during the past course of treatment under the influence of the chemotherapeutics administered, while the cavities that were present had not healed.

Some properties, studied in the isolated bacterial populations are discussed in *Chapter V*. Caseated foci usually yielded a scanty (up to a total of ten) or, less often, a moderate (up to 200) number of colonies. The bacterial growth from open cavities was in general profuse and always consisted of resistant bacteria.

Resistance to streptomycin alone occurred once, against PAS alone in two cases; in all three cases the growth was scanty or only the guinea-pig was positive. Resistance to isoniazid alone was found in cases of scanty as well as profuse growth. In no case were isoniazid resistant bacteria cultured from a guinea-pig, while the Löwenstein culture of the same material was negative.

If isoniazid resistance concurred with PAS and/or streptomycin resistance, growth was usually profuse, never scanty (Table 33).

Of the populations consisting of sensitive bacteria, 60% of the foci treated for less than four months yielded a growth of more than ten

colonies, against 5% of the foci treated for 7—9.5 months (Table 34). If the material had been inoculated both on a Löwenstein medium and in a guinea-pig, in one third of the guinea-pigs the changes were very slight. This occurred equally often irrespective whether the culture was negative, or weakly or strongly positive (Table 35). All populations with sensitive bacteria had however a normal virulence on indirect inoculation in guinea-pigs (Table 36). The catalase test was performed in 57 sensitive populations; it was positive in 53 cases, weakly positive or negative in 4 cases.

Resistance of the bacteria to one or more of the drugs streptomycin, PAS and isoniazid was observed in 23 cultured bacterial populations: 13 times to streptomycin, 15 times to PAS, 20 times to isoniazid. If the sputum had remained positive up to the operation, there was no difference between the resistance of the bacteria cultured from the specimen and those from the sputum. Sometimes bacterial resistance was found in a lung lesion, while the sputum was always negative; sometimes the sputum flora was resistant at an earlier stage, sometimes it had been slightly resistant; occasionally the bacteria in the specimen seemed less resistant than in the sputum. In no case bacterial sensitivity was found in the specimen if the sputum flora showed resistance. If more than one lesion in a specimen was positive, the bacteria showed the same degree of resistance (Tables 37, 38).

The bacterial populations, resistant to PAS and streptomycin, retained their resistance in some transfers through guinea-pigs and solid media. No relationship was found in the isoniazid-resistant populations between the degree of isoniazid-resistance and the length of the total duration of isoniazid treatment: in some short-treated populations resistance against at least 30 μg , was found, while a few populations treated for more than ten months were resistant against no more than 0.3 μg . The populations treated for less than four months, though resistant to 30 μg ., had a positive catalase test, due to the presence of sensitive bacteria in the population; the isoniazid-resistant populations treated for a longer time had a negative or a very weakly positive catalase test and showed in addition, as far as this was investigated, a decreased virulence for guinea-pigs (Tables 39, 40).

The composition of these populations was further studied with quan-

titative resistance determinations, catalase determinations and continued culture in guinea-pigs and golden hamsters. In two populations the inhomogeneity became manifest even in the first resistance and catalase determinations. From one population sensitive bacteria were isolated by further culturing in guinea-pigs. In five populations sensitive bacteria were not isolated from guinea pigs after three months' inoculation, but from golden hamsters after maximally eight months. In six resistant populations no sensitive bacteria were demonstrated. In a final word some general problems are touched upon based on data from the literature. Unculturability of the bacteria in the tuberculous caseated foci does not exclude by any means that a proportion of the bacteria is alive, though they are probably in a condition of lowered metabolism.

Unculturability of the bacteria has been demonstrated in older caseated foci on which no chemotherapy had been applied; unculturability is therefore not only the result of chemotherapy. It is not clear to what degree the correlation demonstrated in our material between increasing duration of treatment on the one hand, with the decrease of the number of foci with culturable bacteria and the reduction of the number of colonies cultured from the foci, on the other, is a result of the chemotherapeutic treatment or of the aging of the foci.

The cultured bacterial populations from caseated foci are in a large majority sensitive for the therapeutic agents used by the patient. Although it cannot be ruled out that certain factors may impede the action of the chemotherapeutics, it is still considered acceptable that it is especially the condition of lowered metabolism and the low degree of multiplication which keep the bacteria alive without their becoming resistant to the drugs administered. Resistance especially develops when the antibacterial drugs can exert a selecting influence on multiplying populations, in which, naturally, small numbers of resistant bacteria are always present. The finding of some few culturable, resistant bacteria in some lesions might suggest that here populations had perished that had developed resistance and from which some persistent bacteria were cultured from these lesions.

Chemotherapeutics can influence only those lesions which contain multiplying populations: areas with exudative inflammation, caseated

foci with continuing or renewed bacterial growth—combined or not combined with softening—and open cavities.

Lijst van aangehaalde literatuur

- ADLER R. H., MANTZ E. A., CLINE E. J.: The viability of tubercle bacilli in resected pulmonary tissue. *Trans. 14th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1955, 172.
- AUERBACH O., SMALL M. J.: The syndrome of persistent cavitation and noninfectious sputum during chemotherapy and its relation to the open healing of cavities. *Amer. Rev. Tuberc.* 1957, 75, 242.
- BARCLAY W. R., EBERT R. H., KOCH-Weser D.: Mode of action of isoniazid. *Amer. Rev. Tuberc.* 1953, 67, 490.
- BARIETY M., DELARUE J., PAILLAS J.: Le problème des infiltrats ronds. XI^e Congrès Nat. de la Tuberc., Toulouse, 1953, blz. 97.
- BARNETT M., BUSHBY S. R. M., MITCHISON D. A.: Tubercle bacilli resistant to isoniazid: virulence and response to treatment with isoniazid in guinea pigs and mice. *Brit. J. Exp. Path.* 1953, 34, 568.
- BARRY V. C., CONALTY M. L., GAFFNEY E. E.: Isoniazidresistant strains of tubercle bacilli. *Lancet*, 1953, 264, 978.
- BECK F., YEGIAN D.: Study of the tubercle bacillus in resected pulmonary lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1952, 66, 44.
- BELL J. W.: The problem of resection surgery for pulmonary tuberculosis in the noninfectious patient with persisting cavitary disease. *Amer. Rev. Tuberc.* 1956, 74, 169.
- BERNARD E., KREIS B. e.a.: Etude bactériologique de pièces pulmonaires prélevées par exérèse. *Poumon* 1954a, 10, 487.
- BERNARD E., RENAULT P. e.a.: Fermeture de cavités tuberculeuses sous l'influence des médicaments antibiotiques. Vérifications anatomiques. *Rev. de la Tub.* 1954b, 18, 508.
- BERNSTEIN S., STEENKEN W.: A comparison of bovine albumin and physiologic saline as diluents of tissue homogenates in the recovery of tubercle bacilli by culture and animal inoculation. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 70, 370.
- BERNSTEIN S., FALCO E. B., d'ESOPO N. D.: The effect of prolonged incubation on the recovery of tubercle bacilli from resected pulmonary lesions. *Trans. 14th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1955, 190.
- BLOCH H., WIDELOCK D., PEIZER L. R.: Susceptibility to isoniazid and pathogenicity of tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1953, 68, 734.
- BOISVERT, CALMELS: Etude comparative de quelques milieux de culture modernes utilisés pour l'isolement du bacille tuberculeux. *Ann. Inst. Past.* 1952, 83, 338.
- BOJALIL L. F., CORIA R.: Recovery of tubercle bacilli from resected pulmonary tuberculous lesions with the use of four different culture media. *Acta Tuberc. Scand.* 1957a, 34, 260.
- BOJALIL L. F., PEREZ-TAMAYO R., CORIA R.: Tubercle bacilli in sputum and in open cavities, a bacteriological correlation. *Acta Tuberc. Scand.* 1957b, 34, 268.
- BRONKHORST W., KRAAN J. K.: De clinische betekenis van de bacillendichtheid in tuberculeus sputum. *N. T. v. G.* 1949, 93, 1299.
- CANETTI G.: Les bacilles de Koch dans les lésions des phthisiques sont-ils vivants ou morts. *Rev. de la Tub.* 1946, 10, 26.
- CANETTI G.: Le nombre de bacilles dans les lésions tuberculeuses du poumon. *Rev. de la Tub.* 1947, 11, 529.
- CANETTI G., GRUMBACH F.: Diffusion de la streptomycine dans les lésions caséuses des tuberculeux pulmonaires. *Ann. Inst. Past.* 1953, 85, 380.
- CANETTI G., ISRAEL R., HERTZOG P. e.a.: Le bacille de Koch dans les lésions tuberculeuses traitées par exérèse après chimiothérapie. *Poumon*, 1954, 10, 465.
- CANETTI G.: Some inaccuracies in the currently employed methods of the determination of isoniazid resistance of tubercle bacilli. *Bull. Un. int. Tuberc.* 1955, 25, 149.

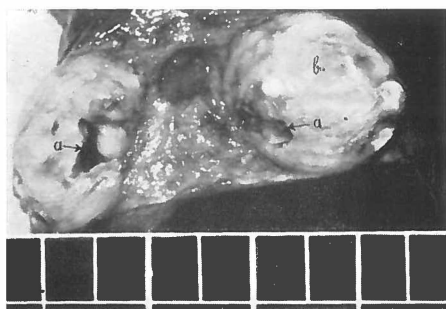
- CANETTI G.: Rev. de la Tub. 1958a, 22, 732.
- CANETTI G., GROSSET J.: L'influence du taux maximum d'I. N. H. libre du sérum sur la structure des souches isoniazido-résistantes apparaissant au cours de l'I. N. H. thérapie. Rev. de la Tub. 1958b, 22, 778.
- CANETTI G.: Modifications des populations des foyers tuberculeux au cours de la chimiothérapie antibacillaire. Ann. Inst. Past. 1959a, 97, 53.
- CANETTI G.: Der Wandel der Tuberkulose aus allgemein pathologischer Sicht. Beitr. Klin. Tuberk. 1959b, 121, I, 23.
- CHADOURNE P., DUCHET-SUCHAUX L., JOANNOU J. e.a.: Tuberculose des bronches périphériques. Expression bronchographique et anatomique sur 100 documents d'exérèse. Rev. de la Tub. 1955, 19, 947.
- CHADOURNE P., DUCHET-SUCHAUX L., JOANNOU J. e.a.: La tuberculose des bronches périphériques, son expression bronchographique dans les séquelles de la tuberculose pulmonaire chronique traitée par la chimiothérapie. Rev. de la Tub. 1956, 20, 153.
- COHN M. L., ODA U., KOVITZ C., MIDDLEBROOK G.: The isolation of INH-resistant mutants in vitro. Amer. Rev. Tuberc. 1954, 70, 465.
- COLETOS P. J.: Action bactéricide des anesthésiques volatils et des vapeurs d'alcool éthylique sur Myc. tbc. C.R. Conf. Int. Madrid 1954, 374.
- COLETOS P. J.: Etude des facteurs extrinsèques de mycobacterium tuberculosis rendant aléatoire sa culture in vitro. Ann. Inst. Past. 1959, 97, 135.
- COTTER D. J., FOREMAN H. M., SEAL R. M. E.: The pathology and bacteriology of resected tuberculous lung lesions after chemotherapy. Thorax 1958, 13, 150.
- DEELMAN H. T.: Ronde tuberculeuse longhaarden. N. T. v. G. 1955, 99, 2190.
- DENNIS E. W., GOBLE F. G., BERBERIAN D. A.: Experimental tuberculosis of the syrian hamster. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1949, 52, 646.
- DENST J., RUSSELL W. F.: A pathological and bacteriological study of cavitory pulmonary tuberculosis, treated with streptomycin and isoniazid. Amer. J. Clin. Path. 1956, 26, 335.
- DOUGLASS R., MEDLAR E. M., LINCOLN N. S., BOSWORTH E. B.: A planned study of minimal tuberculosis. J. Thor. and Cardiovasc. Surg. 1959, 38, 191.
- DUBOS R. J.: Discussion on survival of bacilli in tuberculous lesions. Amer. Rev. Tuberc. 1952, 65, 637.
- DUBOS R. J.: Viability of tubercle bacilli in vivo with and without chemotherapy. Amer. Rev. Tuberc. 1953, 67, 874.
- VAN DIJK B.: Resistance, Catalase-activity and virulence of tubercle bacilli in the laboratory. Proc. Tuberc. Res. Council. 1957, 44, 43.
- EADE A. W. T., KENT H. G., LARGE S. E. e.a.: The radiological and bacteriological assessment of tuberculous lung lesions remaining after chemotherapy. Thorax 1959, 14, 104.
- d'ESOP N. D., BERNSTEIN S., RALEIGH J. W., STEENKEN W.: Bacteriology of pulmonary lesions during chemotherapy. Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm. 1953, 229.
- d'ESOP N. D.: The morphology and bacteriology of resected lesions. Trans. 15th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm. 1956, 167.
- FALK A., TUCKER W. B., KAUFMAN J. E.: A clinical and bacteriological correlation of resected pulmonary tuberculous lesions. Amer. Rev. Tuberc. 1954, 70, 689.
- FREERKSEN E., MEISSNER G.: Diagnostische und Biologische Probleme der Isoniazid-resistenten Tuberkelbazillen. Bull. Un. int. Tuberc. 1956, 26, 240.
- GALY P., BÉRARD M. e.a.: Cavernes bulleuses. Documentation anatomo-clinique. Rev. de la Tub. 1953, 17, 1037.

- GERNEZ-RJEU Ch., RAZEMON P. e.a.: Etude bactériologique des lésions tuberculeuses enlevées par exérèse. *Poumon*, 1954, 10, 523.
- GERNEZ-RJEU Ch., TACQUET A., VOISIN C., FABRE M.: Virulence pour le cobaye, la souris et le hamster des bacilles résistants à l'isoniazide. *Rev. de la Tub.* 1955, 19, 1.
- GIERHAKKE F. W.: Untersuchungen zu Fragen der Virulenz und Resistenz von Tuberkelbakterien gewonnen von Patienten mit Lungen TBC nach längerer Chemotherapie. *Beitr. Klin. Tuberk.* 1954, 112, 283.
- GRAY D. F., CLARKE B. L., JOHNSTONE W. E.: Detection of small numbers of tubercle bacilli in diagnosis. The lethal action of concentrating agents. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 991.
- GRIFFITH A. S., PAGEL W.: Susceptibility of the golden hamster to bovine, human and avian tubercle bacilli and to the vole strain of acid-fast bacilli. *J. Hygiene* 1939, 39, 154.
- HALL W. H., GLEASON D. F.: A bacteriological and pathological study of tuberculous lesions, resected from 119 patients after chemotherapy. *Trans. 12th. Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1953, 219.
- HARMSSEN A. E.: *Tuberculoma pulmonis*. Diss. Utrecht 1950.
- HEATON A. D., RUSSELL W. F., DENST J., MIDDLEBROOK G.: Bacteriologic studies on the sputum and resected pulmonary lesions of tuberculous patients. *J. Clin. Invest.* 1959, 38, 1376.
- HIRSCH J. G.: Biochemical factors which may influence the fate of tubercle bacilli in tissues. *Ciba Found. Symp. on Exp. Tuberc.* 1955.
- HOBBY G., AUERBACH O., LENERT T., SMALL M.: The late emergence of *M. Tuberculosis* in liquid cultures of pulmonary lesions resected from humans. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 70, 191.
- HUGHES F. A.: Morphology and bacteriology of resected tuberculous pulmonary lesions. *Trans. 14th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1955, 163.
- HURFORD J. V., VALENTINE W. H.: Viable tubercle bacilli in closed lesions. *Tubercle*, 1957, 38, 194.
- JENSEN K. A.: Towards a standardisation of laboratory methods. *Bull. Un. Int. Tuberc.* 1954, 24, 78.
- JOHNSON B. H., SAGER F. J.: Bacteriological studies of resected pulmonary tuberculous lesions. *Dis. Chest.* 1956 30, 69.
- JOHNSON Q., HEWITT W. C.: Cystlike cavities with isoniazid therapy in pulmonary tuberculosis. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 1054.
- YEGIAN D.: Biology of tubercle bacilli in necrotic lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1952, 66, 629.
- YOUMANS G. P.: in: Relapse of tuberculous lesions. *Amer. Rev. Respir. Dis.* 1959, 80, suppl. blz. 53.
- KATZ H. L.: Bacteriologic studies of resected specimens from cases without previous chemotherapy or after brief courses. *Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1953, 227.
- KAUFMAN C. J., BARSHAY B. e.a.: The correlation of the preoperative sputum-negative interval with bacteriology and morphology in the resected specimen in pulmonary tuberculosis. *Trans. 13th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1954, 299.
- KAUFMANN G., WANNER J., AMSLER H.: Tuberkelbazillen in resezierten Lungenherden. *Schweiz. Z. Tuberk.* 1954, 11, 322.
- KEERS R. Y., RIDDELL R. W., REID L.: Open healing of tuberculous cavities. *Tubercle* 1956, 37, 404.
- KENNEY M., JOHNSON P. M., LOVELOCK F.: The influence of the size of inoculum on susceptibility testing of *Myc. Tuberculosis*. *Amer. Rev. Tuberc.* 1955, 72, 390.

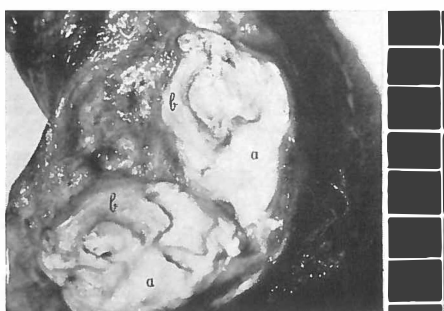
- KREIS B.: Les déficiences enzymatiques des bacilles tuberculeux isoniazido-résistants. *Adv. Tub. Res.* 1958, 9, 178.
- LYON R. H., HALL W. H.: The effect of isoniazid upon the growth of tubercle bacilli from pulmonary lesions. *Amer. Rev. Respir. Dis.* 1959, 79, 518.
- MACKANESS G. B., SMITH N.: The bactericidal action of isoniazid, streptomycin and terramycin on extracellular and intracellular tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1953, 67, 323.
- MAC LEOD W. M., TAIT SMITH A.: Some observations on the historical appreciation, pathological development and behaviour of round tuberculous foci. *Thorax* 1952, 7, 334.
- MANDEL W., HEATON A. D., RUSSEL W. F., MIDDLEBROOK G.: Studies of antimicrobially-active isoniazid and streptomycin serum levels in adult tuberculous patients. *J. Clin. Inv.* 1959, 38, 1356.
- MANTHEI R. W., ROTH L. J., BARCLAY W. R., EBERT R. H.: The distribution of C¹⁴ labeled Isoniazid in tissues and body fluids of tuberculous patients and guinea pigs. *Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1953, 245.
- MANTEN A.: Some aspects of isoniazid-resistance of tubercle bacilli. *Bull. Un. Int. Tuberc.* 1956, 26, 297.
- MC CUNE R. M., TOMPSETT R.: The persistence of drug-susceptible tubercle bacilli in the tissues despite prolonged antimicrobial therapy. (Fate of myc. tbc. in mouse tissues). *J. Exp. Med.* 1956, 104, 737.
- MC CUNE R. M., MC DERMOTT W.: The conversion of tuberculous infection to the latent state by the administration of pyrazinamide and a companion drug. (Fate of myc. tbc in mouse tissues), *J. Exp. Med.* 1956, 104, 763.
- MC DERMOTT W.: Microbial persistence, *Yale J. Biol. Med.* 1958, 30, 257.
- MC DERMOTT W., in panel over: Relapse of tuberculous lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1959, 80 suppl. blz. 47.
- MEDLAR E. M., BERNSTEIN S., STEWARD D. M.: A bacteriological study of resected tuberculous lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1952a, 66, 36.
- MEDLAR E. M.: Survival of bacilli in tuberculous lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1952b, 66, 381.
- MEDLAR E. M.: Behavior of pulmonary tuberculous lesions. *Amer. Rev. Tuberc.* 1955, 71, suppl.
- MEISSNER G., KRACHT J.: Die Wirkung der INH Behandlung auf INH-Resistenz und Virulenzschädigung der Tuberkelbakterien. *Beitr. Klin. Tuberk.* 1956a, 116, 144.
- MEISSNER G.: Eigenschaften der unter INH Behandlung der Patienten selektierten Tuberkelbakterien. *Jahresbericht 1956/1957b. TBC Forschungs Inst. Borstel.*
- MEISSNER G.: Isoniazid-resistente Tuberkelbakterien. *Fortschr. Tuberk. Forsch.* 1956c, 7, 52.
- MEISSNER G.: Bakteriologische Untersuchungen an Lungenresektionspräparaten. *5e Wissenschaft. Tag. Nordd. Tub. Ges. Bremen* 1957, blz. 54.
- MEISSNER G.: Die allgemeinen Beziehungen zwischen Resistenz, Virulenzschädigung und Bakterienzahl in Abhängigkeit von der Dauer der Behandlung mit Isoniazid. *Beitr. Klin. Tuberk.* 1959, 121, 350.
- MELVIN I., KLEIN G. C., JONES W. e.a.: An evaluation of media for diagnostic cultures of tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1951, 63, 459.
- MIDDLEBROOK G.: Isoniazid-resistance and Catalase activity of tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 471.
- MIDDLEBROOK G.: Growth requirements of isoniazid-resistant tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1957, 75, 155.
- MIDDLEBROOK G.: COHN M. L., SCHAEFER W. B.: Studies on Isoniazid and tubercle

- bacilli III. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 70, 852.
 MITCHISON D. A.: Virulence of isoniazid-resistant tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 640.
 MULDER R. J.: Resultaten van de chemotherapie bij longtuberculose. Diss. Groningen 1960.
 MUNTINGHE O. G.: Tuberculomen en haarden van intra-alveolaire tuberculose. Diss. Amsterdam 1959.
 NASSAU E., PAGEL W.: Heilungsvorgänge bei der Lungentuberkulose gestern und heute. *Fortschr. Tuberk. Forsch.* 1956, 7, 212.
 NAUTA Z.: Spontane caverneverdwijning. Diss. Amsterdam 1946.
 PAILLAS J., ROCHE G., DAUMET Ph.: Les cavernes tuberculeuses anatomiquement détergées après traitement antibiotique. *Rev. de la Tub.* 1957, 21, 446.
 PEIZER L. R., WIDELock D., KLEIN S.: Virulence in guinea pigs of isoniazid-resistant cultures isolated from clinical specimens. *Amer. Rev. Tuberc.* 1953, 68, 290.
 RALEIGH J. W., KAZLOWSKI J. e.a.: The bacteriology of resected tuberculous lesions. *Trans. 14th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1955, 187.
 RENAULT P., CHRÉTIEU J.: La tuberculose des bronches. Ed. Maloine, 1954.
 RENAULT P., BERNARD E.: Les guérisons locales dans les cavernes restées ouvertes après chimiothérapie prolongée. *Rev. de la Tub.* 1957, 21, 893.
 RIST N., LIBERMANN C., GRUMBACH F., LEVADITI J. C.: Sur le pouvoir pathogène des bacilles tuberculeux isoniazido-résistants. *Rev. de la Tub.* 1955, 19, 659.
 RIST N., KREIS B.: Problèmes diagnostiques et biologiques concernant les bacilles de Koch isoniazido-résistants. *Bull. Un. Int. Tuberc.* 1956a, 26, 206.
 RIST N.: Pathogenicity of isoniazid-resistant tubercle bacilli and prophylaxis of tuberculosis in children. *Amer. Rev. Tuberc.* 1956b, 74, suppl. 75.
 ROBSON J. M.: in panel over: Relapse of tuberculous lesions. *Amer. Rev. Respir. Dis.* 1959, 80, suppl. bl. 56.
 RIJNBERG W. M.: Tuberculosis pulmonum. Diss. Groningen 1954.
 SCHAEFER W. B.: The effect of isoniazid on growing and resting tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 125.
 SCHEER H. J. G.: Über die Entstehung und Histogenese der Lungentuberkulose. Diss. Amsterdam 1953.
 SCHMIDT P. G.: Die Behandlung der Konglomerattuberkulose unter Berücksichtigung des Tuberkuloms, der aufgefüllte Kaverne, der kaseösen Pneumonie. *Beitr. Klin. Tuberk.* 1959, 121, 321 en 363.
 SMITH C. R.: Clinical comparison of several culture media in the diagnostic demonstration of tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 1951, 63, 470.
 SNIJDER J.: Het longtuberculoom. Diss. Utrecht 1953.
 STEELE J. D., CLAUDON D. B.: The use of quarts dust in an attempt to test the viability of tubercle bacilli in resected closed tuberculous lesions after long-term antimicrobial therapy. *Amer. Rev. Tuberc.* 1955, 71, 144.
 STEENKEN W.: Methods of determining viability of tubercle bacilli. *Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm.* 1953a, 268.
 STEENKEN W., WOLINSKI E.: Virulence of tubercle bacilli recovered from patients treated with isoniazid. *Amer. Rev. Tuberc.* 1953b, 68, 548.
 STEWART S. M.: Virulence of tubercle bacilli recovered from patients treated with isoniazid. *Amer. Rev. Tuberc.* 1954, 69, 641.
 STEWART S. M., TURNBULL F. W. A., MAC GREGOR A. R.: The influence of chemotherapy on the bacterial content of tuberculous pulmonary lesions. *Tubercle*, 1956, 37, 388.
 STONEBRINK B.: Tubercle bacilli and pyruvic acid. *Proc. Tub. Res. Council* 1957, 44, 67.

- STRAUB M.: Longtuberculomen. N. T. v. G. 1957, 101, 1199.
- SWEANY H. C., LEVINSON S. A., STADNICHENKO A. M. S.: Tuberculous infection in people dying of causes other than tuberculosis. Amer. Rev. Tuberc. 1943, 48, 131.
- THOMPSON J. R.: Open healing of tuberculous cavities. Incidence and pathology in 240 resected specimens. Amer. Rev. Tuberc. 1955, 72, 601.
- TISON F.: Les facteurs néfastes à la culture du bacille de Koch à partir de produits pathologiques. Ann. Inst. Past. 1952, 82, 484.
- TISON F., JOLY H., CHARCOSSET F., VILLEMEN J.: Etude bactériologique de cent quatre pièces de résection pulmonaire pour tuberculose. Poumon, 1954, 10, 497.
- TRUDEAU SOCIETY. Amer. Rev. Tuberc. 1953, 68, 951.
- TURNBULL F. W. A., STEWART S. M.: Studies on the distribution of drug-resistant tubercle bacilli within the lung. Amer. Rev. Tuberc. 1956, 73, 406.
- VANDIVIERE H. M., WILLIS H. S., GENTRY W. H.: The use of tetrazolium salts in the study of tubercle bacilli. Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm. 1953, 201.
- VINK H. H., MANTEN A., BEKKER J. H.: Afwijkende weefselreacties als symptoom van de verminderde virulentie van tuberkelbacteriën die resistent tegen INH zijn. N. T. v. G. 1956, 100, 1149.
- VOSSCHULTE K., GIERHAKKE F. W.: Die Resektionsbehandlung der Lungentbc. Beitr. Klin. Tuberk. 1958, 119, 118.
- WAYNE L. G.: Growth of myc. tbc. from resected specimens under various conditions. Amer. Rev. Tuberc. 1954, 70, 910.
- WAYNE L. G., SALKIN D.: Bacteriology of resected tuberculous lesions. Amer. Rev. Tuberc. 1956, 74, 376.
- WEISER O. L., HOWARD O. P., DYE W. E.: Assay of streptomycin in resected lung-tissue. Trans. 12th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm. 1953, 198.
- WIDELock D., PEIZER L. R., KLEIN S.: Public Health significance of tubercle bacilli resistant to isoniazid. Amer. J. Publ. Hlth. 1955, 45, 79.
- WIER J. A., STOREY P. B. e.a.: The incidence of smear positive culturally negative sputum in patients with pulmonary tuberculosis. Trans. 14th Conf. Chemoth. Tuberc. Vet. Adm. 1955, 255.
- WILLEMSE F. M. H.: Morphologisch onderzoek van het tuberculoma pulmonis. Diss. Utrecht 1953.



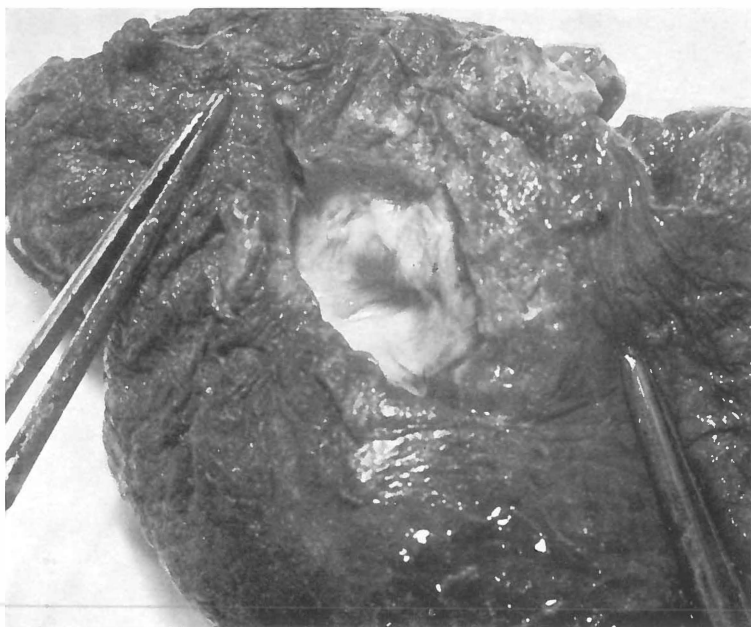
Afb. 1



Afb. 2



Afb. 3



Afb. 4

Afb. 1. Gemengde haard, 1,5 cm. groot, grotendeels uit vrij taaie kaas bestaande (b), maar waarin in het naar de hilus gekeerde deel een grillig begrensd gebiedje voorkwam, dat weke kaas bevatte (a).

Afb. 2. Gemengde haard, 2 cm. groot, waarvan een grillig begrensd centraal gedeelte verweekte kaas bevatte (a), terwijl wandstandige gebieden uit taaie kaas bestonden (b).

Afb. 3. Vanaf de pleura ingesneden caverne, met niet te sonderen bronchus, die deels lucht onder spanning bevatte, deels pus (a), terwijl aan delen van de wand een laag taaie kaas hechtte (b). In de pus veel bacteriën (Z.N.+5), waarvan de kweek- en caviaproef negatief bleef.

Afb. 4. Met lucht gevulde caverne met gladde, droge wand en afgesloten bronchus, waarin geen bacteriën werden aangetoond. (geval 160, zie blz. 71)